

Université de Montréal

# **Évolution échocardiographique et prédicteurs de progression de la sténose valvulaire aortique**

par

Adriana Benjamim de Oliveira

Département de Sciences biomédicales

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de maîtrise ès sciences  
en Sciences Biomédicales  
option Recherche clinique

Avril, 2014

© Adriana Benjamim de Oliveira, 2014

Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :  
**Évolution échocardiographique et prédicteurs de progression de  
la sténose valvulaire aortique**

présenté par :  
Adriana Benjamim de Oliveira

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

E. Marc Jolicoeur, président-rapporteur  
Jean-Claude Tardif, directeur de recherche  
Éric Rhéaume, co-directeur  
Jonathan Afilalo, membre du jury

# Résumé

**Introduction:** L'utilisation clinique de biomarqueurs pour prédire la progression de la sténose valvulaire aortique (SVA) n'est pas encore validée à ce jour. Nous voulons évaluer des prédicteurs de la progression de la SVA d'étiologie dégénérative sur la valve aortique tricuspide.

**Méthodes:** Nous avons identifié 126 cas avec SVA et  $\geq 2$  échocardiogrammes post-recrutement et 126 témoins appariés recrutés par la Biobanque de l'Institut de Cardiologie de Montréal. Nous avons collecté des données cliniques, échocardiographiques et génétiques de base et nous avons mesuré des biomarqueurs plasmatiques. L'évolution de la SVA a été établie par l'analyse des échocardiogrammes sériés et définie comme la variation moyenne par an des paramètres suivants: vitesse transvalvulaire aortique maximale, gradient transvalvulaire aortique moyen (GTAM), aire valvulaire aortique et aire valvulaire aortique indexée. Nous avons évalué l'association des données cliniques/échocardiographiques/génétiques (polymorphisme LPA rs10455872) avec la progression de la SVA et des biomarqueurs plasmatiques avec la présence et la progression de la SVA.

**Résultats:** La durée moyenne de suivi a été de 2,4 ans. Selon des analyses multivariées concernant les données cliniques/échocardiographiques/LPA rs10455872, une fréquence cardiaque plus élevée (pour les patients plus âgés et les hommes), le diabète (pour les hommes), et un plus grand GTAM au premier échocardiogramme sont associés à une évolution plus rapide de la SVA. La présence de régurgitation aortique au premier échocardiogramme est associée à une évolution plus lente de la SVA. L'analyse des biomarqueurs plasmatiques *versus* la présence et la progression de la SVA est en cours.

**Conclusion:** Nos résultats indiquent que une fréquence cardiaque plus élevée, le diabète, et un plus grand GTAM au premier échocardiogramme sont associés avec une progression plus rapide de la SVA. Les résultats de cette étude pourraient contribuer à une approche plus personnalisée du suivi et du traitement de la SVA.

**Mots-clés:** Sténose valvulaire aortique, biomarqueurs, fréquence cardiaque, diabète, gradient transvalvulaire aortique moyen, régurgitation aortique

# Abstract

**Introduction:** The clinical use of biomarkers to predict the progression of aortic valve stenosis (AVS) is not yet validated. We want to evaluate potential predictors of the progression of degenerative AVS on tricuspid valve.

**Methods:** We identified 126 cases with AVS and  $\geq 2$  echocardiograms post-recruitment and 126 paired controls recruited by the Montreal Heart Institute's Biobank. We collected clinical, echocardiographic and genetic base data and measured plasma biomarkers. The AVS evolution was established by the analysis of the serial echocardiograms and defined as the mean variation per year of the following parameters: maximal aortic transvalvular velocity, mean aortic transvalvular gradient (MATG), aortic valve area and indexed aortic valve area. We evaluated the association of clinical, echocardiographic and genetic (LPA rs10455872 polymorphism) data with the AVS progression and plasma biomarkers with the AVS presence and progression.

**Results:** The mean follow-up was 2.4 years. According to multivariate analysis concerning the clinical/echocardiographic/ LPA rs10455872 data, a higher heart rate (for older patients and males), diabetes mellitus (for males) and a greater MATG in the first echocardiogram are associated to a faster AVS evolution. The presence of aortic regurgitation in the first echocardiogram is associated to a slower AVS evolution. The analysis of plasma biomarkers *versus* the AVS presence and progression is ongoing.

**Conclusion:** Our results indicate that a higher heart rate, diabetes mellitus, and a greater MATG are associated with faster AVS progression. The results of this study should contribute to a more personalized approach of the AVS follow-up and treatment.

**Keywords:** Aortic valve stenosis, biomarkers, heart rate, diabetes mellitus, mean aortic transvalvular gradient, aortic regurgitation.

# Table des matières

Résumé.....	ii
Abstract.....	iii
Table des matières.....	iv
Liste des Tableaux .....	viii
Liste des Figures .....	ix
Liste des sigles et des abréviations .....	xi
Dédicace.....	xv
Remerciements.....	xvi
Introduction.....	1
1. La valve aortique.....	1
1.1 Définition .....	1
1.2 Anatomie macroscopique.....	3
1.3 Anatomie microscopique .....	5
1.4 Variantes anatomopathologiques .....	7
2. Sténose valvulaire aortique (SVA) .....	9
2.1 Définition .....	9
2.2 Physiopathologie.....	10
2.3 Épidémiologie .....	25
2.4 Présentation clinique.....	26
2.5 Diagnostic et suivi.....	30
2.6 Traitement .....	50
3. Progression de la SVA .....	59
3.1 Progression hémodynamique de la SVA .....	59
3.2 Biomarqueurs sériques <i>versus</i> la présence et la progression de la SVA.....	63
4. La Biobanque de la Cohorte Génétique Hospitalière de l’Institut de Cardiologie de Montréal et l’étude principale « Aspects génétique et moléculaire de la sténose valvulaire aortique » .....	66
4.1 La Biobanque de la Cohorte Génétique Hospitalière de l’Institut de Cardiologie de Montréal.....	66

4.2 L'étude principale « Aspects génétiques et moléculaires de la sténose valvulaire aortique » .....	67
Objectifs.....	69
1. Objectif principal .....	69
1.1 Objectif(s) secondaire(s).....	69
Méthodes détaillées.....	70
1. Recrutement et sélection des patients .....	70
1.1 Critères d'inclusion.....	71
1.2 Critères d'exclusion .....	71
1.3 Résumé du processus de recrutement et sélection des patients .....	73
1.4 Possibilité de biais de sélection.....	75
2. Choix des biomarqueurs plasmatiques.....	78
3. Collecte des données.....	80
3.1 Données cliniques .....	80
3.2 Données échocardiographiques .....	81
3.3 Biomarqueurs plasmatiques.....	84
3.4 Génétiques.....	85
3.5 Protection et conservation des données .....	86
3.6 Résumé du processus de collecte des données .....	86
4. Aspects statistiques .....	87
4.1 Critères d'évaluation.....	87
4.2 Analyses statistiques .....	88
5. L'étude VALID-ACTION .....	97
5.1 Objectifs.....	98
5.2 Description sommaire de l'étude .....	98
5.3 Description schématique des méthodes ancienne et actuelle de collecte, de traitement et d'entreposage des échantillons sanguins de la Biobanque .....	100
5.4 Description schématique du plan de recherche de l'étude VALIDACTION .....	102
Article scientifique.....	103
Résultats complémentaires.....	147
1. Caractéristiques cliniques, génétiques et échocardiographiques de base de la population.	147

1.1	Caractéristiques cliniques et génétiques de base .....	147
1.2	Caractéristiques échocardiographiques de base.....	150
2.	Évolution échocardiographique de la SVA.....	152
3.	Associations univariées des biomarqueurs plasmatiques avec la présence de SVA .....	152
4.	Associations univariées des biomarqueurs plasmatiques avec la progression de la SVA..	155
5.	Statut actuel de l'étude VALID-ACTION.....	158
	Discussion.....	159
1.	Progression échocardiographique de la SVA et associations multivariées significatives des caractéristiques cliniques et échocardiographiques avec cette progression.....	160
1.1	Progression échocardiographique de la SVA .....	160
1.2	Associations multivariées significatives des caractéristiques cliniques et échocardiographiques avec la progression de la SVA.....	162
2.	Associations univariées significatives des biomarqueurs plasmatiques avec la présence et la progression de la SVA .....	162
2.1	Les niveaux plasmatiques plus élevés d'HDL sont inversement associés à la présence et à la progression de la SVA.....	162
2.2	Les niveaux plasmatiques plus élevés de glucose et de triglycérides sont associés à la présence et à une progression plus rapide de la SVA. Les niveaux plasmatiques plus élevés d'insuline sont associés à une progression plus rapide de la SVA. ....	164
2.3	Les niveaux plasmatiques plus élevés d'apoB ont une tendance à l'association avec la présence de SVA.....	166
2.4	Les niveaux plasmatiques plus élevés de Lp(a) ont une tendance à l'association avec la présence de SVA mais sont significativement associés à une progression plus lente de la SVA	167
2.5	Les niveaux plasmatiques de créatinine plus élevés sont associés avec la présence et une progression plus rapide de la SVA. Les niveaux du taux de filtration glomérulaire plus élevés sont associés avec l'absence et une progression plus lente de la SVA.....	169
2.6	Les niveaux plasmatiques plus élevés d'ostéopontine sont associés à une progression plus rapide de la SVA .....	171
2.7	Les niveaux plasmatiques plus élevés de dyméthylarginine asymétrique sont associés avec une progression plus rapide de la SVA. ....	172

2.8	Les niveaux plasmatiques plus élevés de la protéine C réactive ( <i>C-reactive protein : CRP</i> ) présentent une tendance à l'association avec une progression plus rapide de la SVA	173
2.9	Les niveaux plasmatiques plus élevés de gamma-glutamyl transférase ont une tendance à l'association avec une progression plus lente de la SVA	174
2.10	Les niveaux plasmatiques plus élevés de troponine T de haute sensibilité ont une tendance à l'association avec la présence de SVA	175
3.	Perspectives futures	176
3.1	Augmentation de l'échantillon populationnel disponible pour les mesures des biomarqueurs plasmatiques après les résultats de l'étude VALID-ACTION	176
3.2	Évaluation d'autres variantes génétiques reliées à la présence de SVA dans l'étude principale quant à leur association avec la progression de la SVA	176
3.3	Nouveau partenariat avec la Biobanque de l'ICM pour augmenter le nombre total de cas et de témoins	177
	Conclusion	178
	Bibliographie	179



## Liste des tableaux

Tableau I: Variations génétiques associées avec la SVA .....	23
Tableau II: Classification de la SVA - ACC/AHA 2014.....	49
Tableau III: Caractéristiques cliniques ou paramètres échocardiographiques associés à la progression de la SVA - Références .....	62
Tableau IV: Biomarqueurs sériques associés à la présence de SVA - Références .....	63
Tableau V: Caractéristiques des cas sélectionnés vs cas non-sélectionnés.....	77
Tableau VI: Résumé du processus de collecte des données .....	86
Tableau VII: Variables indépendantes évaluées par des analyses univariées.....	90
Tableau VIII: Variables indépendantes significatives aux analyses univariées mais exclues des analyses multivariées (n manquant >12% du total des 126 observations)* .....	92
Tableau IX: Caractéristiques cliniques et génétiques de base des cas et témoins .....	149
Tableau X: Caractéristiques échocardiographiques de base des cas et témoins .....	151
Tableau XI: Associations univariées des biomarqueurs plasmatiques avec la présence de SVA .....	154

# Liste des figures

Figure 1: Schéma du cœur et des 4 valves intracardiaques. ....	1
Figure 2: Relation anatomique entre la valve aortique et les autres valves cardiaques – vision supérieure. ....	2
Figure 3: Anatomie macroscopique de la valve aortique normale. ....	3
Figure 4: Anatomie microscopique de la valve aortique normale. ....	6
Figure 5: Variantes anatomopathologiques documentées de la valve aortique. ....	7
Figure 6: Étiologies principales de la SVA – Représentations schématiques (a), échocardiographiques (b) et pièces pathologiques (c). ....	10
Figure 7: Résumé des facteurs d’initiation, des conditions reliées à la progression de la SVA et des composantes inflammatoire, lipidique et phosphocalcique de la physiopathologie de la SVA. ....	24
Figure 8: Histoire naturelle de la SVA. ....	29
Figure 9: Classification du niveau de calcification valvulaire aortique proposé par Rosenhek <i>et al.</i> ....	34
Figure 10: Mesures par Doppler de la vitesse transvalvulaire aortique maximale (a et b) et calcul des gradients transvalvulaires aortiques maximal et moyen (b). ....	37
Figure 11: Calcul de l’aire valvulaire aortique (AVA) par l’équation de continuité. ....	39
Figure 12: Résumé du processus de recrutement et sélection des patients pour la sous-étude "Évolution échocardiographique et prédictors de progression de la sténose valvulaire aortique" ....	74
Figure 13: Représentation du choix final des biomarqueurs plasmatiques pour la sous-étude « Évolution échocardiographique et prédictors de progression de la sténose valvulaire aortique ». ....	80
Figure 14: Exemples des mesures échocardiographiques d’élasticité de l’aorte en mode M (a) et en 2D (b et c). <i>Aortic strain index</i> – indice de tension aortique. ....	82

Figure 15: Nouvelle mesure de la calcification valvulaire aortique – ratio entre l’aire de calcification valvulaire aortique et l’aire de l’anneau aortique.....	84
Figure 16: Schéma de l’ancienne méthode de collecte, traitement et entreposage des échantillons sanguins de la Bioabanque.....	100
Figure 17: Schéma de la méthode actuelle de collecte, de traitement et d’entreposage des échantillons sanguins de la Bioabanque. ....	101
Figure 18: Résumé du plan de recherche de l’étude VALID-ACTION pour chacun des 53 participants.....	102
Figure 19: Associations univariées des biomarqueurs plasmatiques avec la progression de la SVA (caractérisées par la variation par année de la vitesse transvalvulaire aortique maximale – VitMax_N).....	156
Figure 20: Associations univariées des biomarqueurs plasmatiques avec la progression de la SVA (caractérisées par la variation par année du gradient transvalvulaire aortique moyen – GradMoy_N).....	156
Figure 21: Associations univariées des biomarqueurs plasmatiques avec la progression de la SVA (caractérisées par la variation par année de l’aire valvulaire aortique – Aire_N). ....	157
Figure 22: Associations univariées des biomarqueurs plasmatiques avec la progression de la SVA (caractérisées par la variation par année de l’aire valvulaire aortique indexée – AireInd_N).....	157

## Liste des sigles et des abréviations

ACC: *American College of Cardiology*

ADMA: *asymmetric dimethylarginine*

ADN: acide désoxyribonucléique

AHA: *American Heart Association*

Aire\_1: aire valvulaire aortique au premier échocardiogramme

Aire\_N: variation par année de l'aire valvulaire aortique

AireInd\_1: aire valvulaire aortique indexée au premier échocardiogramme

AireInd\_N: variation par année de l'aire valvulaire aortique indexée

ALP: *alkaline phosphatase*

ALT: *alanine aminotransferase*

AT-1: *angiotensin II type I receptor*

AoD: diamètre du VG à la fin de la diastole

AoS: diamètre du VG à la fin de la systole

Apo B: apolipoprotéine B

Apo E: apolipoprotéine E

ApoA-I: apolipoprotéine A-I

Area\_1: *value of the aortic valve area in the first echocardiography*

Area\_N: *variation per year of the aortic valve area*

AreaInd\_1: *value of the indexed aortic valve area in the first echocardiography*

AreaInd\_N: *variation per year of the indexed valve area*

AS: *aortic stenosis*

AST: *aspartate aminotransferase*

AVA: aire valvulaire aortique

AVAi: aire valvulaire aortique indexée

AVS: *aortic valve stenosis*

BMI: *body mass index*

BMP 2: *bone morphogenic protein 2*

BNP: *B-type natriuretic peptide*

BRA: bloqueurs des récepteurs de l'angiotensine II

Cbfa1: *core-binding factor subunit alpha-1*

CCR5: *chemokine receptor type 5*

CHARGE: *Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology*

COPs: *circulating osteoprogenitors*

CRP: *C-reactive protein*

CSA: *cross-sectional area*

CT: cholestérol total

CW: *continuous wave*

Db: diabète

DM: *diabetes mellitus*

E: épaisseur de la paroi du ventricule gauche

ECA: enzyme de conversion de l'angiotensine

EDTA: *ethylenediaminetetracetic acid*

ELISA: *enzyme-linked immunosorbent assay*

eNOS: *endothelial nitric oxide synthase*

ESC: *European Society of Cardiology*

EuroSCORE: *European System for Cardiac Operative Risk Evaluation*

FC: fréquence cardiaque

FDA: *Food and Drugs Administration*

GFR: *glomerular filtration rate*

GGT: *gamma-glutamyl transferase*

GradMoy: gradient transvalvulaire aortique moyen

GradMoy\_1: gradient transvalvulaire aortique moyen au premier échocardiogramme

GradMoy\_N: variation par année du gradient transvalvulaire aortique moyen

GTAM: gradient transvalvulaire aortique moyen

GWAS: *genome wide association study*

HbA1c: hémoglobine glyquée

HDL: *high-density lipoprotein*

HR: *heart rate*

HS: *haute sensibilité*

ICM: Institut de Cardiologie de Montréal

IECA: inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

IME: indice de masse corporelle

IL-10: interleukine 10

IL-1B: interleukine 1B

LA: *left atrium*

LDL: *low density lipoprotein*

LP(a): lipoprotéine(a)

Lrp5: *LDL receptor-related protein 5*

LVOT: *left ventricular outflow tract*

MATG: *mean aortic transvalvular gradient*

MaxVel: *maximal aortic transvalvular velocity*

MaxVel\_1: *value of the maximal aortic transvalvular velocity in the first echocardiography*

MaxVel\_N: *variation per year of the maximal aortic transvalvular velocity*

MCAS: maladie cardiaque athérosclérotique

MDRD study: *Modification of diet in renal disease study*

Mean Grad: *mean aortic transvalvular gradient*

MeanGrad\_1: *value of the mean aortic transvalvular gradient in the first echocardiography*

MeanGrad\_N: *variation per year of the mean aortic transvalvular gradient*

MMPs: *matrix metalloproteinases*

Msx2: *muscle segment homeobox homologue 2*

MVAS: maladie vasculaire athérosclérotique

NO: *nitric oxide*

NOTCH1: gène Notch homologue 1

Notch1: protéine produite à partir du gène NOTCH1

NT-pro-BNP: *N terminal fragment - BNP*

OR $\alpha$ : *oestrogen receptor  $\alpha$*

OPG: *ostéoprotégérine*

P: pression dans le ventricule gauche

PARTNER: *Placement of Transcatheter Aortic Valves*

PON 1: *paraoxonase 1*

PTH: *parathyroid hormone*

R: rayon du ventricule gauche

RANK: *receptor activator of nuclear factor kappa B*

RANKL: *receptor activator of nuclear factor kappa B ligand*

RMC: résonance magnétique cardiaque

ROS: *reactive oxygen species*

RVA: remplacement de la valve aortique

RWT: *relative wall thickness*

SAT: *subcutaneous adipose tissue*

SCC: Société Canadienne de Cardiologie

Scr: concentration sérique de créatinine

SNP: *single nucleotide polymorphism*

STS: *Society of thoracic surgeons*

SuH: *supressor of hairless*

SV: *stroke volume*

SVA: sténose valvulaire aortique

TAVR: *transcatheter aortic valve replacement*

TGF- $\beta$ 1: *transforming growth factor  $\beta$ 1*

TNF  $\alpha$ : tumor necrosis factor  $\alpha$

VG: ventricule gauche

VAT: *visceral adipose tissue*

VitMax ou  $V_{\max}$ : vitesse transvalvulaire aortique maximale

VitMax\_1: vitesse transvalvulaire aortique maximale au premier échocardiogramme

VitMax\_N: variation par année de la vitesse transvalvulaire aortique maximale

VTI: *velocity-time integral*

Wnt3: *wingless-type MMTV integration site family member 3*

## Dédicace

*À mon mari Rafael et à mon fils Daniel, les  
amours de ma vie*



## Remerciements

Je tiens à remercier mon directeur de recherche, Dr Jean-Claude Tardif, ainsi que mon co-directeur, Dr Éric Rhéaume, pour leur soutien et pour avoir rendu cette étude possible. Leur intérêt pour ce projet m'a aidée à comprendre et maîtriser le domaine de la recherche clinique. Ce projet m'a permis de développer mes connaissances et mon esprit scientifique.

Je remercie également mon superviseur, Dr David Busseuil, qui m'a épaulée et orientée pendant toutes les phases de la réalisation de l'étude: conception et perfectionnement du protocole, organisation des travaux, des nombreuses présentations et réunions concernant la discussion des méthodes et résultats et, finalement, la rédaction de l'article scientifique et de ce mémoire, dont il a fait la révision. Ce mémoire a également été soigneusement corrigé par Nolwenn Merlet, à qui j'exprime ma plus sincère reconnaissance.

J'adresse encore ma grande gratitude à: Christian Eyendja et Marie-Pier Payette, pour leur support au recrutement des patients; Benoit Arsenault, pour son aide dans le recrutement et sélection des patients, ainsi que à la compréhension et analyse des données génétiques; Dr Joel Lavoie, pour les mesures des biomarqueurs plasmatiques et Dr Marie-Pierre Dubé, pour les mesures en génétique; Marie-Claude Guertin, Clifford Ekempe et Annik Fourtier, pour les analyses statistiques et l'aide à les comprendre; Dr David Rhainds, pour le partage de sa vaste connaissance scientifique; Randa Zamrini, pour son importante contribution à soumission des protocoles au Comité d'Étique; et Elisa Perez, pour son grand support au projet complémentaire VALID-ACTION.

Je n'oublie pas tout le personnel de la Biobanque de la Cohorte Génétique Hospitalière, ainsi que du Service d'Échocardiographie et des Cliniques Externes de l'ICM, dont la gentille coopération a été fondamentale pour la réalisation de l'étude. Merci en spécial à Sylvie Paiement, du Centre de Documentation de l'ICM, pour l'aide à la recherche bibliographique ainsi qu'un grand soutien moral. J'aimerais aussi remercier l'ensemble des membres du

laboratoire de recherche fondamentale et de l'équipe de recherche clinique du Dr Jean-Claude Tardif pour leur accueil et leur encouragement au cours de ma maîtrise.

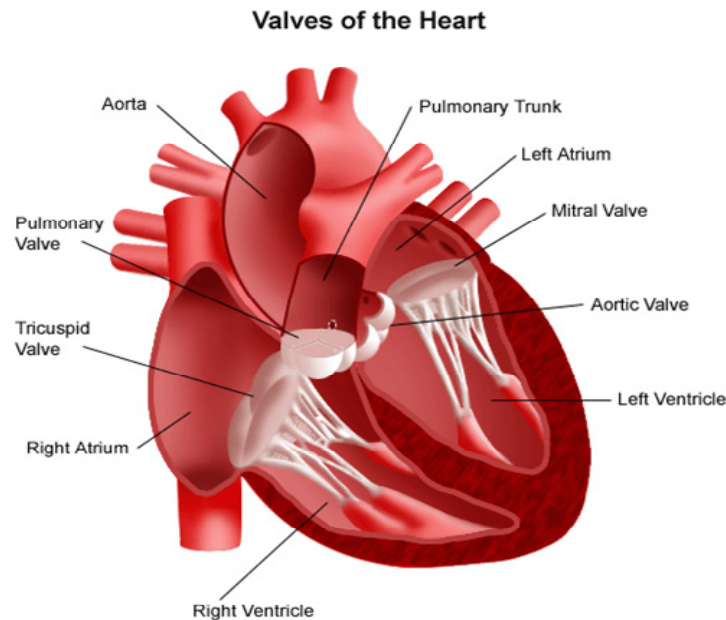
Finalement, un gros merci à mon mari Rafael pour son grand support et compréhension pendant ces années de grande dédicace aux travaux de recherche; et à notre fils Daniel qui nous émerveille à chaque jour avec le miracle de la vie.

# Introduction

## 1. La valve aortique

### 1.1 Définition

Le cœur humain normal possède 4 valves qui régulent le flux sanguin intracardiaque: la valve tricuspide, la valve mitrale, la valve pulmonaire et la valve aortique (Figure 1).

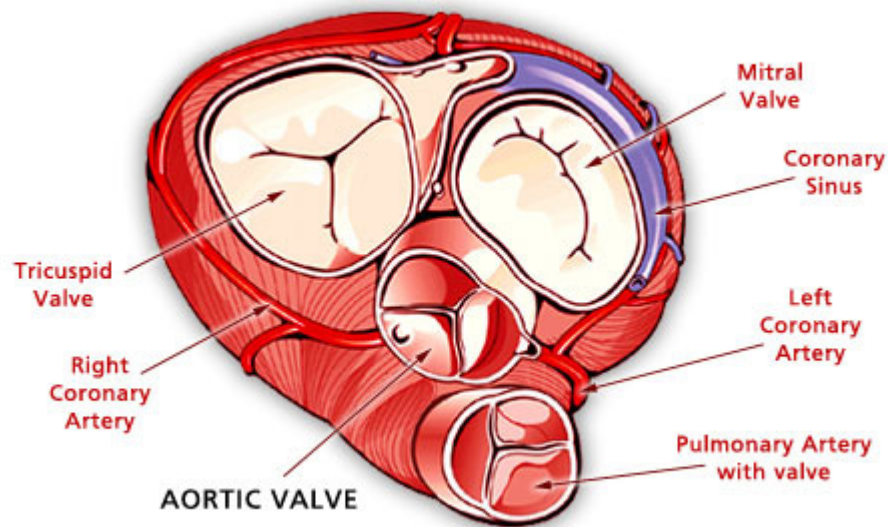


**Figure 1: Schéma du cœur et des 4 valves intracardiaques.**

Adapté de Heart valve repair or replacement surgery. Health Library. Johns Hopkins Medicine. ([www.hopkinsmedicine.org](http://www.hopkinsmedicine.org)).

*Valves of the heart:* valves du cœur; *aortic valve:* valve aortique; *left ventricle:* ventricule gauche; *right ventricle:* ventricule droite; *right atrium:* oreillette droite; *tricuspid valve:* valve tricuspide; *pulmonary valve:* valve pulmonaire; *aorta:* l'aorte; *pulmonary trunk:* tronc pulmonaire; *left atrium:* oreillette gauche; *mitral valve:* valve mitrale.

**La valve aortique** est localisée entre la chambre de chasse du ventricule gauche (VG) et l'aorte ascendante. Elle forme la portion centrale du cœur et est proche de la valve pulmonaire en position antérieure, de la valve mitrale en position postéro-latérale, et de la valve tricuspide en position postéro-médiale (Anderson RH 2000, Kim H *et al.*, 2013). (Figure 2).



**Figure 2: Relation anatomique entre la valve aortique et les autres valves cardiaques – vision supérieure.**

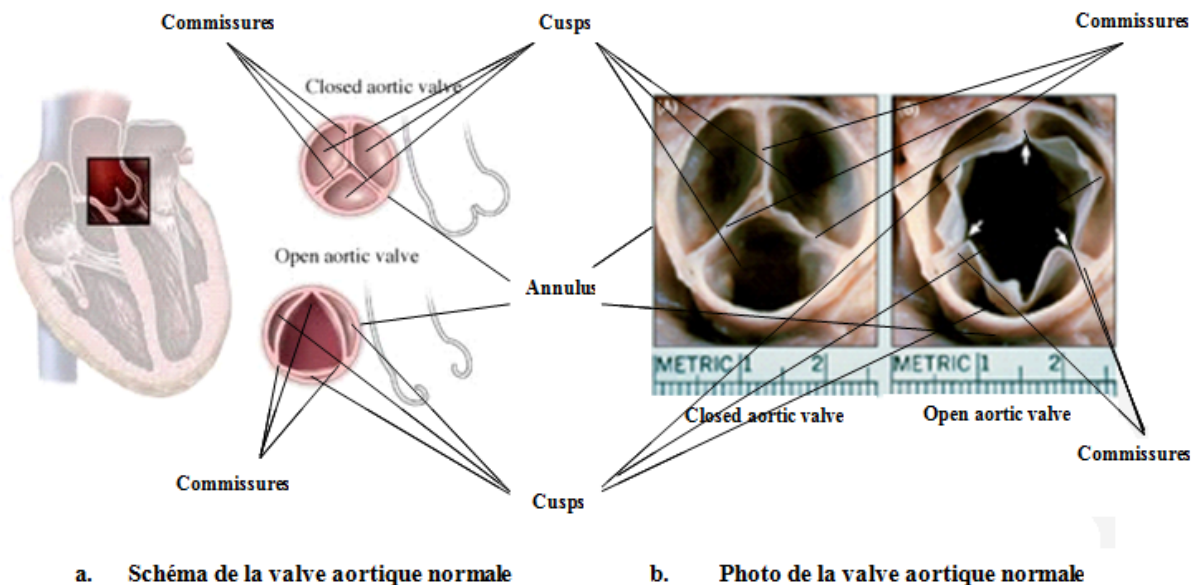
Adapté de Aortic Valve Replacement. University of Southern California. ([www.cts.usc.edu](http://www.cts.usc.edu)).

*Aortic valve*: valve aortique; *pulmonary artery with valve*: artère pulmonaire avec valve; *tricuspid valve*: valve tricuspide; *mitral valve*: valve mitrale. *Coronary sinus*: sinus coronarien.

La fonction de la valve aortique est de prévenir la régurgitation du sang à partir de l'aorte à l'intérieur du VG pendant la diastole ventriculaire et de permettre le flux approprié de sang – le débit cardiaque – du VG à l'aorte pendant la systole ventriculaire (Mackie BD & Subhi Ali Y 2013).

## 1.2 Anatomie macroscopique

La valve aortique fait partie intégrante d'une unité structurale qu'est la racine aortique. Cette dernière représente l'unité de jonction entre le VG et l'aorte ascendante et est constituée de différentes structures: l'anneau valvulaire aortique, les commissures, les triangles inter-feuillets, les sinus de Valsalva, la jonction sino-tubulaire et les cuspidés (ou valvules ou feuillets) (Misfeld M & Sievers HH 2007). Les principaux éléments macroscopiques de la valve aortique sont représentés dans la Figure 3.



**Figure 3: Anatomie macroscopique de la valve aortique normale.**

Adapté de Carson-Dewitt R. Aortic valve replacement. ([www.beliefnet.com](http://www.beliefnet.com)). (a) et Hoaglin M. Aortic Valve. National Institutes of Health. ([science.nichd.nih.gov](http://science.nichd.nih.gov)). (b)

*Commissures*: commissures; *cusps*: cuspidés; *annulus*: anneau; *open aortic valve*: valve aortique ouverte; *closed aortic valve*: valve aortique fermée.

### **1.2.1 Anneau**

L'anneau valvulaire aortique est une structure collagèneuse qui traverse la jonction artérioventriculaire et sert de support structural au complexe de la valve aortique. Le format de l'anneau ressemble à une couronne qui connecte virtuellement les points d'attachement des cuspides (Hamdan A *et al.*, 2012).

### **1.2.2 Cuspides**

La structure centrale de la valve aortique est composée de 3 cuspides (ou feuillets) aortiques, chacune avec un format de mi-lune (ou semi-lunaire). Une petite dilatation de l'aorte proximale est associée à chaque cuspid. Ces dilatations sont appelées collectivement sinus de Valsalva ou sinus aortiques et sont identifiées en fonction de leur association avec l'ostium coronaire respectif: sinus gauche, sinus droit, et sinus postérieur (ou non-coronarien) (Malouf JF *et al.*, 2008; Misfeld M & Sievers HH, 2007). Les 3 cuspides aortiques sont alors nommées selon les sinus qu'elles recouvrent (cuspid gauche, cuspid droite et cuspid non-coronarienne).

Chaque cuspid est attachée à la paroi de l'aorte par le bord extérieur de sa portion semi-circulaire; ce point d'attache forme la jonction sino-tubulaire. Les 2 bords libres sont tournés vers l'intérieur de la valve et sont partagés avec les cuspides adjacentes. Au centre de chaque bord libre se trouve un petit renflement fibreux nommé nodule d'Arantius; ces nodules correspondent au point de contact de la fermeture des cuspides (Malouf JF *et al.*, 2008; Misfeld M & Sievers HH, 2007).

### **1.2.3 Commissures**

Les commissures de la valve aortique correspondent aux espaces entre chaque point d'attachement des cuspides; une valve aortique normale (tricuspid) comprend donc 3 commissures. Les 3 commissures se localisent au dessus de 3 aires triangulaires appelées

triangles inter-feuillets. Les commissures sont composées par des fibres de collagène orientées d'une manière radiale, pénétrant dans l'intima de l'aorte et s'ancrant dans la media de l'aorte. Cette configuration macroscopique permet un support optimal des structures valvulaires, et une transmission du stress exercé sur les cuspidés valvulaires à la paroi aortique (Iskandar A & Thompson PD, 2013).

### 1.3 Anatomie microscopique

La matrice extracellulaire de chaque cuspide de la valve aortique est composée de fibres de collagène, d'élastine et de glycosaminoglycanes, répartis en 3 couches histologiques distinctes qui sont, depuis l'aorte vers le ventricule, la fibrosa, la spongiosa et la ventricularis (Figure 4).

**La fibrosa** est la couche la plus large (0,4 mm) et est essentiellement composée de fibres de collagène et de peu d'élastine. Les fibres de collagène ont une orientation majoritairement circonférentielle ce qui permet à la valve de supporter les importantes charges dues aux stress hémodynamiques lors du cycle cardiaque.

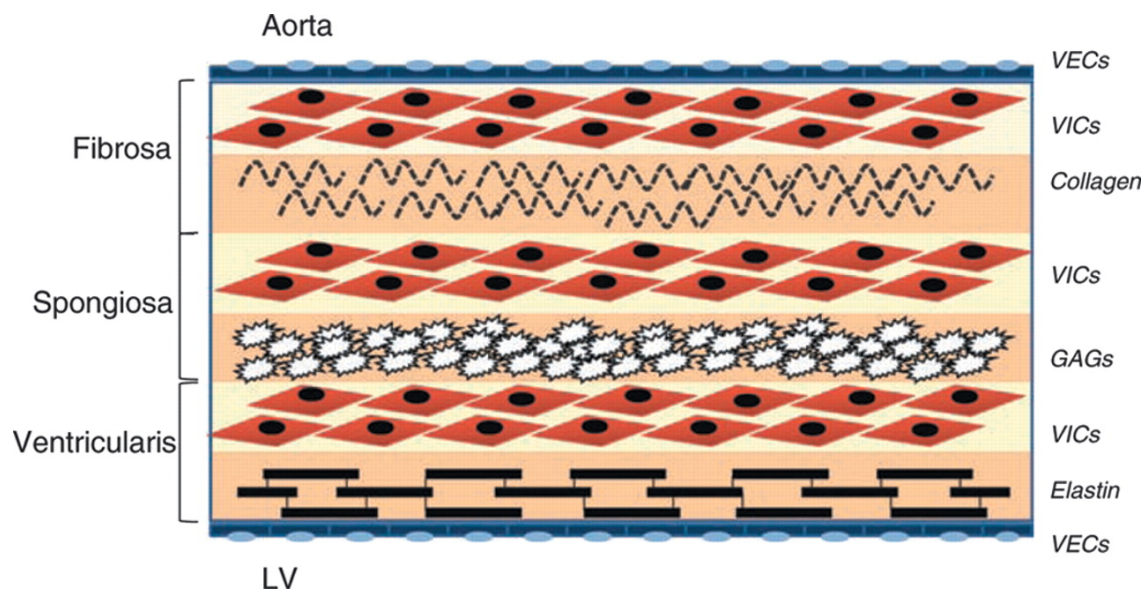
**La spongiosa** est la couche intermédiaire de la cuspide et est principalement composée d'eau et de glycosaminoglycanes. Elle a pour rôle de faciliter les glissements entre la fibrosa et la ventricularis, de résister aux forces de compression exercées par ces 2 couches et d'amortir les chocs.

**La ventricularis** est la couche la plus mince (0,2 mm). Elle est principalement composée de fibres d'élastine et de peu de collagène. Les fibres d'élastine ont une orientation radiale et facilitent l'extension de la valve et aident à la fermeture de la valve. Le collagène y est moins organisé que dans la fibrosa (Scott M & Vesely I, 1995).

Les éléments cellulaires des cuspidés de la valve aortique sont les cellules endothéliales de valve et les cellules interstitielles de valve.

**Les cellules endothéliales de valve** forment une mince couche recouvrant l'ensemble de la cuspside. Cette couche endothéliale est lisse du côté ventriculaire et striée du côté artériel (Misfeld M & Sievers HH, 2007).

**Les cellules interstitielles de valve** correspondent à une population hétérogène de fibroblastes, dont une faible population de myofibroblastes, et de cellules musculaires lisses. Les cellules interstitielles de valves se retrouvent dans les 3 couches de la cuspside et jouent essentiellement un rôle dans le maintien de la structure et de la fonction de la cuspside. L'apport en oxygène de ces cellules est obtenu par diffusion de l'oxygène ainsi que par la présence d'une microcirculation valvulaire (Weind KL *et al.*, 2000).



**Figure 4: Anatomie microscopique de la valve aortique normale.**

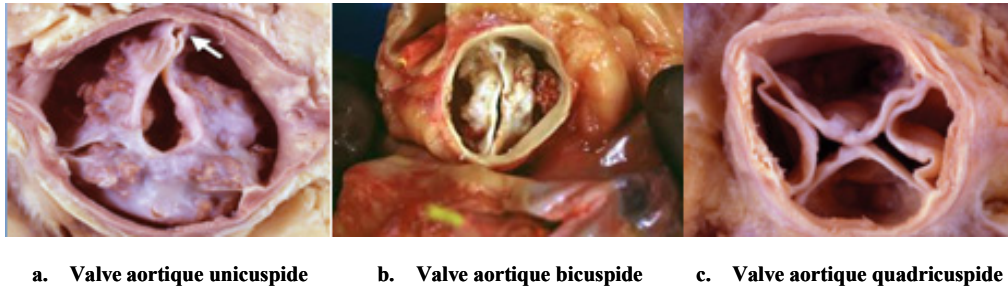
Adapté de Leopold JA 2012.

*VECs* – Valve endothelial cells: cellules valvulaires endothéliales; *VICs* – valve interstitial cells: cellules valvulaires interstitielles; *collagen* : collagène; *GAGs* – glycosaminoglycans: glycosaminoglycanes; *elastin*: élastine; *aorta*: aorte; *LV* – left ventricle: ventricule gauche.



## 1.4 Variantes anatomopathologiques

Il existe 3 variantes anatomopathologiques documentées de la valve aortique normale: l'unicuspidie, la bicuspidie et la quadricuspidie (Figure 5).



**Figure 5: Variantes anatomopathologiques documentées de la valve aortique.**

Adapté de Bennett CJ *et al.*, 2012 (a et c) et de Heart valve surgery.com ([www.heart-valve-surgery.com](http://www.heart-valve-surgery.com)) (b).

### 1.4.1 Valve aortique unicuspide

L'unicuspidie de la valve aortique est une anomalie valvulaire congénitale rare (incidence de 0,02% dans la population générale) où toutes les valves sont unicommissurées avec un attachement commissural en position postérieure. Le bord libre de la valve s'étend à partir de la seule commissure sans autre communication avec l'aorte. Cette anomalie est fréquemment associée à une sténose valvulaire aortique (SVA) cliniquement significative se manifestant habituellement pendant la troisième décennie de vie. Il est estimé que 50% des individus ayant une valve aortique unicuspide présentent également une dilatation de l'aorte ascendante (Novaro GM *et al.*, 2003a, Malouf JF *et al.*, 2008; Ren XS *et al.*, 2011).

### 1.4.2 Valve aortique bicuspide

La bicuspidie de la valve aortique est la maladie cardiaque congénitale la plus commune, avec une incidence de 1-2% dans la population générale et une prédominance masculine de 2:1. La valve aortique bicuspide peut être cliniquement silencieuse mais peut amener au développement précoce de sténose ou insuffisance aortiques, plus fréquemment dans les

cinquième et sixième décennies de vie. Les conditions associées à une valve aortique bicuspide comprennent la persistance du canal artériel, le syndrome de Williams, le syndrome de Turner, la coarctation de l'aorte, la dilatation de la racine aortique et l'anévrisme de l'aorte ascendante. (Malouf JF *et al.*, 2008; Warnes CA, 2003).

### **1.4.3 Valve aortique quadricuspidie**

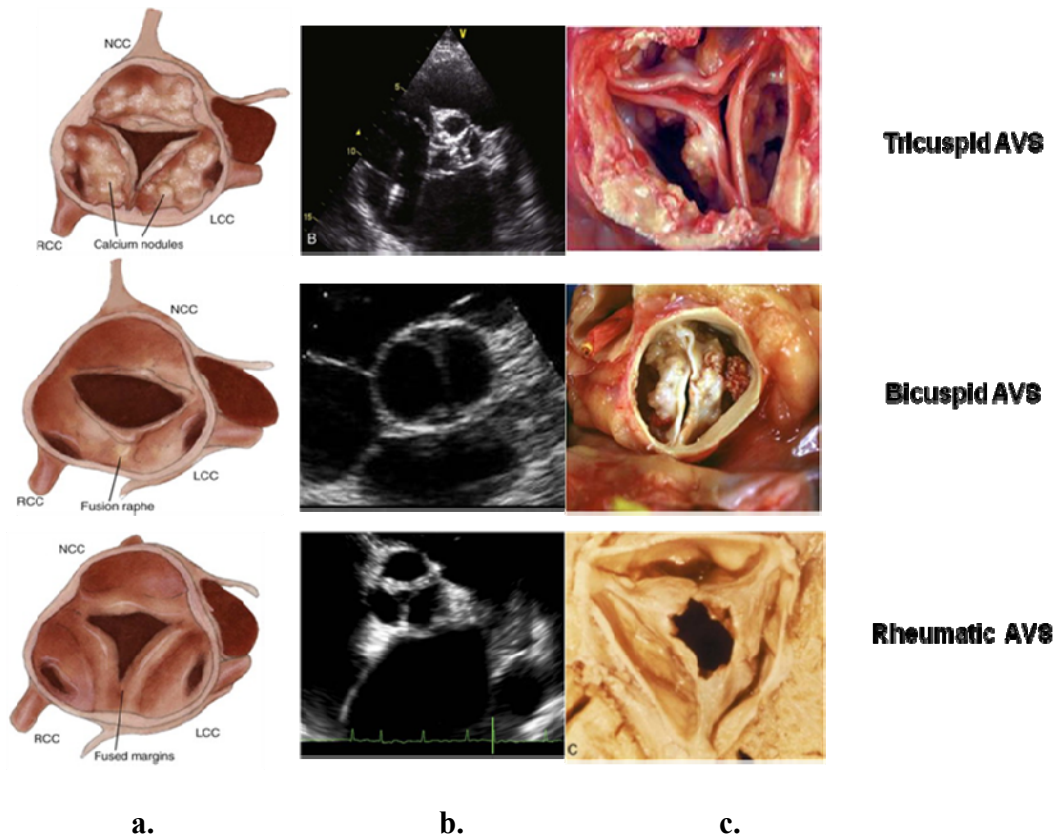
La valve aortique quadricuspidie est une anomalie congénitale valvulaire rare dont l'incidence est estimée à 0,0125–0,033% de la population générale. Sept sous-types différents de valve aortique quadricuspidie ont été identifiés; le plus commun étant la présence de 3 cuspidies de taille égale avec une quatrième cuspidie plus petite (Feldman BJ *et al.*, 1990; Holt NF *et al.*, 2007). La quadricuspidie de la valve aortique survient habituellement de manière isolée, mais elle a été associée avec la persistance du canal artériel, le syndrome d'Ehlers-Danlos, la myocardiopathie hypertrophique obstructive et la sténose sous-aortique. Une insuffisance valvulaire aortique est communément observée dans le contexte de valve aortique quadricuspidie, due à la formation d'un orifice central secondaire à la mauvaise coaptation des 4 feuillets valvulaires (Feldman BJ *et al.*, 1990; Holt NF *et al.*, 2007).

## **2. Sténose valvulaire aortique (SVA)**

### **2.1 Définition**

La SVA calcifiée est une condition lente mais progressive de la valve aortique, caractérisée par la calcification dystrophique des feuillets valvulaires (Freeman RV & Otto CM, 2005), conduisant à leur rigidification et induisant une éventuelle obstruction du flux d'éjection du sang du VG (Otto CM, 2008).

Dans sa forme la plus commune, la SVA calcifiée est dégénérative sur valve aortique tricuspide (Goldbarg SH *et al.*, 2007). Plus rarement elle peut être d'origine rhumatismale due aux séquelles d'une infection au streptocoque pyogène. Enfin, elle peut être due aux malformations congénitales de la valve aortique (bicuspidie, unicuspidie, quadricuspidie), plus fréquemment la bicuspidie (Otto CM & Bonow RO, 2010). Les représentations schématiques, échocardiographiques et par pièces pathologiques des étiologies principales de la SVA sont présentées dans la Figure 6.



**Figure 6: Étiologies principales de la SVA – Représentations schématiques (a), échocardiographiques (b) et pièces pathologiques (c).**

Adaptés de Otto CM *et al.*, 2012 (a), Ranjith MP, 2012 (b) et Heart valve surgery.com ([www.heart-valve-surgery.com](http://www.heart-valve-surgery.com)) et Pathology of vascular disease. Quizlet. ([quizlet.com](http://quizlet.com)) (c).

*AVS* – aortic valve stenosis: sténose valvulaire aortique - SVA; *tricuspid AVS*: SVA tricuspide; *bicuspid AVS*: SVA bicuspide; *rheumatic AVS*: SVA d'origine rhumatismale; *NCC* – *non-coronary cusp*: feuillet non-coronarien; *LCC* – *left coronary cusp*: feuillet coronarien gauche; *RCC* – *right coronary cusp*: feuillet coronarien droit; *calcium nodules*: nodules de calcium; *fusion raphe*: raphé de fusion; *fused margins*: marges fusionnées.

## 2.2 Physiopathologie

La SVA a longtemps été considérée comme une maladie dégénérative passive, occasionnée par la simple accumulation de calcium sur les feuillets. Cependant, des données plus récentes soutiennent l'hypothèse que la SVA est la résultante d'un processus physiopathologique actif avec des facteurs d'initiation identifiables et des facteurs de risque

cliniques impliquant des composantes lipidiques, inflammatoires et phosphocalciques aux niveaux moléculaire et cellulaire (Otto CM, 2008). Plusieurs études ont également tenté d'identifier des polymorphismes génétiques associés à la SVA (Bossé Y *et al.*, 2008; Garg V, 2006; Kyndt F *et al.*, 2007; Thanassoulis G *et al.*, 2013; Arsenault *et al.*, 2014).

### **2.2.1 Facteurs d'initiation et facteurs de risque cliniques de la SVA**

La perte d'intégrité de l'endothélium valvulaire aortique est considérée comme étant l'événement initiateur de la SVA (Helske S *et al.*, 2007). Ces lésions de la paroi endothéliale sont dues à la dynamique du flux sanguin entraînant un important stress de cisaillement au niveau de la valve aortique. Ce phénomène serait d'autant plus accentué dans les cas de valve aortique bicuspidie congénitale (Otto CM, 2008).

Plusieurs facteurs de risque cliniques ont été associés à la présence de SVA calcifiée: l'âge, le genre masculin, les niveaux sériques élevés de lipoprotéine de bas poids moléculaire (LDL, *low density lipoprotein*) et de lipoprotéine(a) (LP(a)), le tabagisme, l'hypertension, le diabète et le syndrome métabolique (Katz R *et al.*, 2006). Cependant, il n'existe à ce jour aucune donnée convaincante présentant un lien de cause-à-effet entre ces facteurs de risque et la présence de SVA calcifiée (Otto CM & Bonow RO, 2010).

### **2.2.2 Composante lipidique**

Des études histologiques de valves aortiques calcifiées humaines ont révélé la présence de LDL oxydées (O'Brien KD *et al.*, 1996; Olsson M *et al.*, 1999) s'accumulant au niveau sous-endothélial de la valve aortique (Otto CM, 2008). Cette accumulation de lipides est présente dès les stades initiaux de la SVA, et se poursuit avec la progression de la lésion (O'Brien KD *et al.*, 1996; Otto CM *et al.*, 1994). La co-localisation valvulaire de ces lipides avec les apolipoprotéines plasmatiques B, A et E, laisse suggérer une origine circulante de ces lipides (O'Brien KD *et al.*, 1996). Leur accumulation au niveau de la valve serait permise par la perte d'intégrité de l'endothélium; les LDL sont ensuite oxydées dans le tissu endothélial. De plus, l'accumulation de LDL oxydées induit une inactivation de l'enzyme de la synthèse de l'oxyde nitrique (*endothelial nitric oxide synthase – eNOS*) et aggrave ainsi la dysfonction endothéliale (Rajamannan NM, 2008).

L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) est exprimée et co-localisée avec les LDL dans des valves aortiques calcifiées. Puisque l'ECA est associée avec les particules de LDL circulantes, il a été suggéré que l'entrée de LDL au niveau des valves aortiques permet également l'entrée d'ECA (O'Brien KD *et al.*, 2002). Également, le potentiel de formation de l'angiotensine II dans les valves sténosées est augmenté, d'autant plus que 2 enzymes alternatives de génération de l'angiotensine II, la chymase et la cathepsine G, voient elles aussi leur expression et activation augmenter (Helske S *et al.*, 2007). Compte tenu des propriétés pro-inflammatoires et pro-fibrotiques de l'angiotensine II et de l'importance de l'inflammation locale et de l'épaississement fibrocalcique pour le développement de la SVA, le système rénine-angiotensine semble contribuer de manière significative à la physiopathologie de la maladie (Mehta PK & Griendling KK, 2007).

### **2.2.3 Composante inflammatoire**

Le tissu valvulaire aortique normal ne présente pas d'infiltrats de cellules inflammatoires, à l'exception de quelques macrophages espacés (pouvant augmenter avec l'âge) et de mastocytes. En revanche, l'entrée de LDL dans la matrice extracellulaire provoque une réaction inflammatoire (Akat K *et al.*, 2009) qui se traduit par une infiltration endothéliale de lymphocytes T et de macrophages et une augmentation de la quantité de mastocytes activés (dégranulés) dans le tissu valvulaire (Helske S *et al.*, 2007). Parmi les macrophages recrutés, certains phagocytent les LDL et forment alors des cellules spumeuses.

Les cellules inflammatoires libèrent de nombreuses cytokines, notamment l'interleukine 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) et le facteur transformant de croissance  $\beta$ 1 (*transforming growth factor* – *TGF- $\beta$ 1*). Ces cytokines se lient aux fibroblastes valvulaires et favorisent la prolifération cellulaire et le remodelage tissulaire par l'intermédiaire des métalloprotéases matricielles (*matrix metalloproteinases* -MMPs) (Yeghiazaryan K *et al.*, 2007); l'état d'activation des MMPs diffèrent qualitativement et quantitativement à chaque stade de la dégénérescence valvulaire (Rajamannan NM, 2006). L'augmentation, la différenciation et l'activation des fibroblastes valvulaires stimulés par l'état inflammatoire favorisent une production accrue de collagène et l'accumulation de composants de la matrice extracellulaire,

conduisant à un épaississement et à un raidissement des feuillets valvulaires. De plus, l'expression élevée de collagène et la dégradation d'élastine occasionnent un ratio collagène/élastine élevé, ce qui contribue d'autant plus à la rigidité valvulaire. Une des conséquences de ce déséquilibre est l'apparition de fibrose (Helske S *et al.*, 2007).

D'autres voies inflammatoires sont également activées pendant le processus de développement de la SVA. Ces voies font notamment intervenir le facteur de nécrose tumorale  $\alpha$  (*tumor necrosis factor – TNF  $\alpha$* ), le système complément, la protéine C réactive, les cathepsines élastolytiques S, K et V et leur inhibiteur principal la cystatine C, et le facteur de croissance endothéliale vasculaire (*vascular endothelial growth factor – VEGF*) (Freeman RV & Otto CM, 2005; Helske S *et al.*, 2007; Otto CM & Bonow RO, 2010).

#### **2.2.4 Composante phosphocalcique**

La calcification est une caractéristique importante de la SVA: elle occupe une grande responsabilité dans la progression hémodynamique de la SVA (Otto CM & Bonow RO, 2010) en contribuant à l'épaississement et au raidissement des feuillets valvulaires (Helske S *et al.*, 2007). Le niveau de calcification valvulaire est ainsi cliniquement important, et une calcification extensive de la valve est prédicteur d'une SVA de progression rapide et de mauvais pronostic (Rosenhek R *et al.*, 2000; Rosenhek R *et al.*, 2004a). Le processus de calcification de la valve semble être initié et entretenu par la présence de LDL oxydées dans le tissu valvulaire aortique et par le processus inflammatoire sous-jacent (Mohler ER, 3rd *et al.*, 2001; Olsson M *et al.*, 1999).

Plusieurs lignées cellulaires sont impliquées dans le processus de calcification valvulaire, avec en tête de liste les myofibroblastes valvulaires. Au cours de la progression de la SVA, une sous-population de myofibroblastes est soumise à une trans-différenciation phénotypique en ostéoblastes *via* la voie métabolique Wnt3 (*wingless-type MMTV integration site family, member 3*) / Lrp5 (*LDL receptor-related protein 5* - protéine apparentée au récepteur des LDL 5) /  $\beta$ -caténine, favorisant ainsi l'ossification de la valve (Otto CM & Bonow RO, 2010; Rajamannan NM 2011). Ces ostéoblastes expriment localement plusieurs protéines impliquées dans la calcification tissulaire, telles que l'ostéopontine, l'ostéonectine,

l'ostéocalcine, la ténascine-C, la protéine morphogénique des os de type 2 (*bone morphogenic protein 2 – BMP 2*), la phosphatase alcaline, la sialoprotéine osseuse et la protéine Cbfa1 (*core-binding factor subunit alpha-1*, un facteur de transcription spécifique des ostéoblastes) (Rajamannan NM *et al.*, 2003). Ainsi, les cellules ostéoblastiques vont former spontanément des nodules calcifiés dont la formation est accélérée par les LDL oxydées, la BMP 2, le TNF- $\alpha$  et le TGF- $\beta$ 1 (Mohler ER, 3rd *et al.*, 1999).

De façon surprenante, une étude histologique a observé la présence d'os mature et d'éléments hématopoïétiques sur 13% des valves provenant de patients SVA (Mohler ER, 3rd *et al.*, 2001). Il a été suggéré que cette ossification hétérotopique pourrait être, en partie, due au recrutement des cellules ostéoprogénitrices circulantes (*circulating osteoprogenitors – COPS*), originaires de la moelle osseuse (Eghbali-Fatourehchi GZ *et al.*, 2005; Khosla S & Eghbali-Fatourehchi GZ, 2006), et capables de reproduire le micro-environnement de l'os (Mohler ER, 3rd *et al.*, 2012; Sacchetti B *et al.*, 2007).

Un autre type cellulaire dérivé de la moelle osseuse et relié à la calcification pourrait intervenir dans le processus de calcification de la valve aortique: la cellule myéloïde calcifiante (*myeloid calcifying cell*). Ces cellules, plus nombreuses dans le cas de diabète de type II, seraient impliquées dans les processus de calcification athérosclérotiques et pourrait expliquer l'augmentation de SVA natives et bioprothétiques chez les diabétiques (Mohler ER, 3rd *et al.*, 2001).

Enfin, les ostéoclastes, cellules qui contrebalancent l'action des ostéoblastes en dégradant la masse osseuse dans des conditions homéostasiques (Eyendja C, 2011), sont également impliqués dans le processus de calcification de la valve. Une superfamille du TNF, impliquée dans la régulation de la réabsorption des os et de la calcification vasculaire, a été observée dans la maladie valvulaire aortique. Ce système de cytokines est constitué de la protéine transmembranaire RANK (*receptor activator of nuclear factor kappa B* - récepteur activateur du facteur nucléaire kappa B), de son ligand RANKL et du récepteur soluble ostéoprotégérine (OPG). Il a été démontré que la voie RANK-RANKL est majoritaire pour la différenciation et l'activation des ostéoclastes au niveau des os et que RANKL est un régulateur-clé de l'ostéoclastogénèse et du développement des lymphocytes. La liaison RANK-RANKL induit la déminéralisation osseuse (Simonet WS *et al.*, 1997), mais augmente la calcification intravasculaire (Tintut Y *et al.*, 2006). L'ostéoprotégérine (OPG) est un



récepteur-leurre soluble qui se lie à RANKL, et inhibe ainsi l'interaction entre RANK et RANKL (Simonet WS *et al.*, 1997). Elle protégerait par conséquent la valve aortique contre un processus de calcification similaire au processus de calcification induit par RANK-RANKL au niveau vasculaire. En effet, Weiss *et al.*, ont démontré que l'OPG a atténué le processus pro-calcifique chez des valves aortiques des souris hypercholestérolémiques et avec tendance à la SVA ( $Ldlr^{-/-}Apob^{100/100}$ ) (Weiss RM *et al.*, 2013).

Finalement, le stress oxydant intracellulaire généré lors de la réaction inflammatoire, avec notamment la production d'espèces réactives de l'oxygène (*reactive oxygen species – ROS*) telles que le peroxyde d'hydrogène et le superoxyde, joue également un rôle important dans la calcification de la valve aortique (Towler DA, 2013). Dans des cellules musculaires lisses vasculaires et des myofibroblastes vasculaires, le peroxyde d'hydrogène active les cascades de signalisation ostéogéniques Cbfa1 (Byon CH *et al.*, 2008) et Msx2 (*muscle segment homeobox homologue 2*)/Wnt (Lai CF *et al.*, 2012). Il a été démontré que ces 2 cascades sont actives dans les valves aortiques en voie de calcification (Miller JD *et al.*, 2008). Plus récemment, il a été décrit dans des cellules interstitielles de valve humaine que le peroxyde d'hydrogène, en créant des dommages de l'ADN (acide désoxyribonucléique), active l'expression des facteurs de transcription ostéogéniques Cbfa1 et Msx2 *via* la protéine Akt (*protein kinase B*) (Branchetti E *et al.*, 2013). L'accumulation des ROS cellulaires observée dans le diabète type II et le syndrome métabolique, due à une dysfonction mitochondriale significative (Jornayvaz FR & Shulman GI, 2010), pourrait donc également expliquer l'incidence plus accrue de SVA quand ces pathologies sont présentes.

### **2.2.5 Composante génétique**

Plusieurs études ont mis en évidence une prédisposition génétique à la maladie valvulaire aortique. Parmi ces études, on rencontre des études épidémiologiques, des analyses d'association par l'approche de gènes candidats et, plus récemment, des analyses d'association par la méthode pangénomique (*genome wide association study – GWAS*).

### 2.2.5.1 Études épidémiologiques

Les études épidémiologiques sur les maladies valvulaires se sont concentrées sur les anomalies congénitales des valves. La bicuspidie de la valve aortique a longtemps été considérée comme étant un événement sporadique et isolé. Toutefois, des travaux initiaux ont décrit des schémas familiaux compatibles avec une transmission génétique (Clementi M *et al.*, 1996) et ont observé une occurrence plus élevée de la maladie parmi les apparentés du premier degré (Huntington K *et al.*, 1997). Par la suite, une plus grande étude a estimé le coefficient d'hérédité de la valve bicuspidie à 89%, suggérant que l'occurrence de cette entité est presque entièrement génétique (Cripe L *et al.*, 2004).

En dehors de la valve bicuspidie, aucune étude épidémiologique sur l'hérédité de la SVA calcifiée n'a été rapportée. Ceci s'explique par la difficulté d'obtenir des données familiales, due à l'apparition tardive de la SVA, si bien que les données sur les parents et grands-parents ne peuvent pas être obtenues (Bossé Y *et al.*, 2008). Toutefois, des études épidémiologiques basées sur d'autres méthodologies ont permis de supporter l'hypothèse d'une composante génétique pour la SVA d'origine dégénérative.

L'analyse d'une base de données populationnelle de l'Utah, aux États-Unis d'Amérique, a observé que les décès suite à des maladies valvulaires aortiques ou mitrales se concentraient parmi les apparentés de certaines familles, suggérant un effet génétique significatif pour la mortalité occasionnée par des maladies valvulaires (Horne BD *et al.*, 2004).

En outre, une étude épidémiologique réalisée dans 283 communes de la région Française du Finistère a calculé la prévalence de patients qui avaient été soumis à un remplacement de la valve aortique (RVA) suite à une SVA (les patients avec des valves aortiques bicuspidies ont été exclus). Les auteurs ont observé un regroupement géographique significatif des communes ayant une prévalence élevée de RVA (Le Gal G *et al.*, 2005).

Également, Probst *et al.* ont évalué la distribution géographique de la SVA chez 2527 patients consécutifs ayant subi un RVA entre 1992-2002 à l'hôpital de Nantes (France). Les investigateurs ont trouvé que la distribution géographique de la SVA était hautement hétérogène. En revanche, en évaluant les communes ayant les taux les plus élevés de patients ayant eu un RVA, les auteurs ont rencontré 5 familles pour lesquelles de nombreux membres sont affectés par la SVA, suggérant ainsi un regroupement familial pour la maladie (Probst V *et al.*, 2006).

Bien que ces études épidémiologiques supportent favorablement l'hypothèse génétique de la SVA, elles n'ont pas montré si le rassemblement géographique des patients SVA pouvait effectivement s'expliquer par des facteurs génétiques. Une preuve conclusive pour supporter le concept d'une prédisposition génétique devrait venir de la démonstration de gènes impliqués dans la cause ou la susceptibilité à la SVA (Bossé Y *et al.*, 2008).

#### **2.2.5.2 Études d'association par l'approche des gènes candidats**

Les études d'association en génétique visent à détecter un lien entre un ou plusieurs polymorphismes génétiques et un phénotype. Celui-ci peut être un trait quantitatif ou discret attribué ou non à une maladie. Dans le cas d'un phénotype à caractère dichotomique, ces études explorent une sur-représentation des polymorphismes dans l'une des deux populations: cas ou témoins. Ces études peuvent se faire selon une approche par gènes candidats ou selon une approche pangénomique (Cordell HJ & Clayton DG, 2005; Eyendja C, 2011; Hardy J *et al.*, 2009).

L'approche par gène candidat consiste à sélectionner des gènes en fonction des informations disponibles qui peuvent provenir, par exemple, des études de modèles expérimentaux ou des études d'association génétique rapportée par des publications antérieures. Une définition claire du phénotype combinée à une sélection adéquate des gènes ainsi que les fréquences alléliques des polymorphismes associés permettent de maximiser la puissance et l'efficacité de ce type d'étude (Wayne ML & McIntyre LM, 2002).

Avec le développement et le support croissant de l'hypothèse que la SVA résulte d'un processus physiopathologique actif avec des facteurs de risque cliniques et des facteurs identifiables d'initiation et de progression de la SVA, des études d'association génétique par l'approche des gènes candidats ont commencé à être rapportées dans le but d'identifier des polymorphismes génétiques associés à la SVA. Ces études ont essentiellement ciblé des gènes candidats reliés à une ou plusieurs des composantes lipidique, inflammatoire et phosphocalcique de la SVA (Avakian SD *et al.*, 2001; Ellis SG *et al.*, 2012; Eyendja C, 2011; Gaudreault N *et al.*, 2011; Moura LM *et al.*, 2012; Nordström P *et al.*, 2003; Novaro GM *et al.*, 2003b; Ortlepp JR *et al.*, 2001; Ortlepp JR *et al.*, 2004; Arsenault BJ *et al.*, 2014).

Ortlepp *et al.* ont étudié la fréquence d'un polymorphisme du gène du récepteur de la vitamine D (BsmI B/b) chez des patients atteints de SVA *versus* des témoins sans SVA

(Ortlepp JR *et al.*, 2001). Des études antérieures avaient démontré des associations de l'allèle B avec une diminution de la masse minérale (Sigurdsson G *et al.*, 1997), augmentation de la perte osseuse (Ferrari S *et al.*, 1995), diminution de l'absorption du calcium (Kiel DP *et al.*, 1997) et augmentation de la concentration de la parathormone (Ferraris S *et al.*, 1999). Les analyses d'association d'Ortlepp *et al.* ont indiqué que la fréquence d'allèle B était significativement plus élevée parmi les cas. Ainsi, l'association de l'allèle B du polymorphisme BsmI du gène du récepteur de la vitamine D avec la SVA suggère une liaison entre la régulation anormale du métabolisme de la vitamine D et l'augmentation de l'incidence de SVA.

Une étude centrée sur le gène codant pour l'apolipoprotéine E (apoE) a identifié une prévalence plus élevée des génotypes apoE possédant les allèles 2/4 et 3/4 chez 43 patients avec SVA en comparaison à des patients sans SVA. Dans l'analyse multivariée, l'association de l'allèle apoE4 avec la présence de SVA était indépendante de l'âge, du sexe, de la maladie cardiaque athérosclérotique (MCAS) et du niveau sérique de LDL (Novaro GM *et al.*, 2003b). Une autre étude réalisée sur 62 individus avec SVA isolée (sans MCAS, ni diabète) et 62 témoins appariés pour l'âge, le sexe, l'indice de masse corporelle - IMC (*body mass index – BMI*), l'hypertension et les niveaux sériques de lipides/lipoprotéines, a également trouvé une prévalence plus élevée de l'allèle apoE2 chez les cas (Avakian SD *et al.*, 2001). Dans cette même étude, il a également été montré une fréquence plus élevée du génotype apoB X+/X+ (du gène codant pour l'apolipoprotéine B – apoB) chez les patients atteints de SVA.

Dans une petite étude cas-témoins auprès de femmes post-ménopause, d'autres chercheurs ont investigué si des polymorphismes des gènes codant pour le récepteur  $\alpha$  de l'œstrogène (*oestrogen receptor  $\alpha$  – OR $\alpha$* ) et pour le TGF $\beta$ -1 étaient associés avec la SVA. Les auteurs ont ainsi montré que le polymorphisme PvuII du gène OR $\alpha$  est indépendamment associé avec la présence de SVA, ainsi que la combinaison des polymorphismes PvuII du gène OR $\alpha$  et AocI du gène TGF $\beta$ -1 (Nordström P *et al.*, 2003). Cette découverte laisse entrevoir une interaction entre le sexe et les facteurs hormonaux et le facteur de risque lipidique pour le développement de la SVA (Otto CM & Bonow RO, 2010).

Concernant l'association du gène codant pour l'interleukine 10 (IL-10) avec la SVA, deux études méritent d'être citées. Dans une première étude portant sur 187 patients avec SVA, 3 polymorphismes du gène IL-10 (-1082, -819 et -592) ont été associés avec le niveau

de calcification des valves aortiques mesuré par spectrométrie d'absorption atomique (Ortlepp JR *et al.*, 2004). Dans la même étude, il a également été montré qu'une délétion de 32 paires de bases dans le gène du récepteur de chimiokine de type 5 (*CC-chemokine recepteur type 5 – CCR5*), et un polymorphisme des gènes du facteur de croissance du tissu conjonctif influençaient aussi le niveau de calcification valvulaire aortique. Plus récemment, dans une cohorte constituée de 487 patients soumis à un RVA *versus* 3294 témoins, Gaudreault *et al.* ont évalué 7 gènes précédemment identifiés comme étant potentiellement associés avec la SVA (Gaudreault N *et al.*, 2011). Deux SNP (*single nucleotide polymorphisms*) localisés dans le gène apoB et 6 SNP à proximité du locus IL-10 ont ainsi été significativement associés avec la maladie.

Dans une population de 190 patients avec SVA et 192 témoins, notre groupe a également évalué des gènes candidats décrits comme étant associés soit à la SVA soit à l'inflammation/ métabolisme lipidique (Eyendja C, 2011). Ils ont ainsi montré que l'allèle mineur du SNP rs4930573 dans le locus LRP5 de même que celui du SNP rs235737 dans le locus BMP2 sont associés à une augmentation du risque de SVA. Très récemment, notre groupe a aussi investigué la possibilité d'association de polymorphismes génétiques reliés au HDL avec le risque de SVA. Un total de 1435 SNP chez des gènes associés aux niveaux d'HDL ont été évalués dans une cohorte plus large de 382 cas et 401 témoins. Aucune variante génétique étudiée n'a été significativement associée avec la présence de SVA. (Arsenault *et al.*, 2014).

Finalement, des chercheurs ont récemment évalué la relation entre des SNP du gène codant pour la paraoxonase 1 (PON 1; une enzyme exerçant une activité anti-athérogénique en réduisant la peroxydation lipidique) et la présence ainsi que la progression de la SVA. Des études antérieures avaient examiné des associations entre les polymorphismes de PON 1 et le développement de MCAS mais avec des résultats contradictoires. Dans cette étude, 67 patients avec SVA modérée et 251 témoins sains ont été évalués. Les investigateurs ont démontré une augmentation de la fréquence de l'allèle de risque R du SNP PON1 Q192R parmi les cas. Des associations significatives ont aussi été trouvées entre le polymorphisme PON1 192 et la progression de la SVA, définie par l'augmentation de la vitesse transvalvulaire aortique maximale et la diminution de l'aire valvulaire aortique entre 2 échocardiographies réalisées à 6 mois d'intervalle (Moura LM *et al.*, 2012).

Les études génétiques d'association par l'approche des gènes candidats s'avèrent donc intéressantes pour permettre d'étudier l'architecture des traits complexes à un coût moins élevé mais leur succès est toutefois limité lorsqu'il s'agit d'évaluer l'association d'un gène candidat *de novo* (Pettersson FH *et al.*, 2009). Dans le cas de la SVA, ce type d'étude génétique a permis d'affirmer que certains individus ont une prédisposition génétique augmentant le risque de développer une SVA. Il est néanmoins important de souligner que ces études sont réalisées sur des échantillons de petite taille, ce qui augmente le risque d'obtenir des résultats faussement positifs et négatifs (Bossé Y *et al.*, 2008).

### **2.2.5.3 Études d'association pangénomiques (GWAS)**

Les études d'association pangénomiques évaluent l'association de variants génétiques avec un phénotype d'intérêt en analysant un grand nombre de SNP dispersés à travers le génome sans la nécessité de pré-spécifier une hypothèse particulière. Elles permettent ainsi de découvrir de nombreux gènes de susceptibilités et potentiellement de nouveaux mécanismes pathophysiologiques sous-jacents à la maladie. Étant donné la quantité élevée des marqueurs, cette approche fait intervenir un important nombre de tests statistiques indépendants. Ceci augmente le risque de voir apparaître de fausses associations. Une méthode pour amenuiser les fausses associations est la correction pour les tests multiples. Lors d'une telle correction, le seuil de significativité  $p$  sera plus sévère en proportion du nombre de comparaisons, habituellement de  $5 \times 10^{-8}$  par SNP. Pour atteindre cette valeur seuil, il est nécessaire d'avoir une taille d'échantillon assez grande. Les études d'association pangénomiques engendrent donc des coûts importants. (Attia J *et al.*, 2009a, b, c).

Dans une importante étude utilisant la technique pangénomique dans une famille de 5 générations souffrant de maladies valvulaires aortiques (majoritairement une bicuspidie de la valve), Garg *et al.* ont observé une liaison avec le chromosome 9q34-35. Ils ont ainsi identifié une mutation spécifique sur le gène NOTCH1, la mutation R1108X, dont l'allèle de risque était présent chez tous les individus affectés de la famille mais pas chez les apparentés non-affectés ni chez 1136 contrôles non-apparentés et d'ethnies diverses (Garg V *et al.*, 2005). Une seconde mutation du gène NOTCH1 (H1505del) a également été rencontrée dans une deuxième famille évaluée (Garg V *et al.*, 2005).

Notch1 interagit avec la protéine de liaison à l'ADN SuH (Suppressor of Hairless) et en retour active des répresseurs transcriptionnels de la famille Hairy. Ceci provoque une diminution de l'expression de Runx2/Cbfa1, un médiateur clé de la différenciation ostéoblastique (McKellar SH *et al.*, 2007). Ainsi, un défaut du gène NOTCH1 favoriserait l'augmentation de la différenciation ostéoblastique des cellules valvulaires aortiques par la voie de Runx2/Cbfa1, en contribuant au développement de calcification dans la valve. Cette étude est la première à avoir identifié un gène associé à la SVA par une approche autre que l'association par gènes candidats, ce qui a renforcé l'utilité de la recherche génétique pour identifier de nouvelles cibles moléculaires (Bossé Y *et al.*, 2008).

Récemment, une étude d'association pangénomique a caractérisé un SNP (rs10455872) dans le locus du gène codant pour la lipoprotéine (a) – Lp(a) (gène LPA) pour lequel l'allèle de risque (allèle G) a réussi à obtenir une significativité pangénomique ( $p=9 \times 10^{-10}$ ) pour la présence de calcification à la valve aortique détectée par tomodensitométrie axiale computerisée (*computed tomography*) (Thanassoulis G *et al.*, 2013). On a déterminé des associations pangénomiques avec la présence de calcification de la valve aortique pour 6942 participants blancs et d'ascendance européenne originaires de 3 cohortes du Consortium pour la Recherche Epidémiologique Génétique du Cœur et du Vieillissement (*Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology-CHARGE Consortium*). Cette étude a ensuite été répliquée avec succès dans des cohortes indépendantes d'ethnies variées (blancs européens, afro-américains, hispano-américains). Dans les deux cohortes de CHARGE où les données sur les niveaux sériques de Lp(a) étaient disponibles, les niveaux sériques de Lp(a) mesurés, ainsi que les niveaux sériques de Lp(a) déterminés génétiquement (comme prédit par le SNP LPA), étaient aussi associés avec la calcification de la valve aortique, suggérant un rôle causal pour la Lp(a). En plus, dans des analyses prospectives, le génotype LPA a été associé avec l'incidence de SVA et de RVA dans une grande cohorte suédoise. L'association avec l'incidence de SVA a également été répliquée dans une cohorte danoise indépendante. L'étude conclut que des variations génétiques dans le locus LPA sont associées avec la calcification de la valve aortique dans divers groupes ethniques et aussi avec l'incidence de SVA clinique.

Plus récemment, notre groupe a renforcé ce concept. La variante génétique rs10455872 du gène LPA a été génotypée dans une large cohorte de 14 735 participants de

l'étude EPIC-Norfolk, où on a également mesuré les niveaux sériques de Lp(a). Effectivement, les participants qui avaient un ou deux allèles de risque G ont présenté plus de risque de développer une SVA dans le temps comparativement aux rs10455872 AA homozygotes. Aussi, les participants dans le tertile supérieur concernant la valeur de Lp(a) sérique ont eu plus de risque de présenter une SVA dans le temps que ceux dans le tertile inférieur. Ces données ont été confirmées dans une cohorte de réplication de 379 cas avec SVA et 404 témoins, où le polymorphisme rs10455872 du gène LPA a également été associé positivement avec la présence de SVA. (Arsenault BJ *et al.*, 2014(b)).

#### **2.2.5.4 Sommaire des variations génétiques associées avec la SVA**

Un sommaire des variations génétiques associées avec la SVA discutées ci-dessus est présenté dans le Tableau I.



**Tableau I: Variations génétiques associées avec la SVA**

Gène	Mutation	Effet(s)	Référence(s)
<b>VDR</b>	BsmI[B]	Régulation anormale du métabolisme de la vitamine D (↓ masse minérale; ↑ perte osseuse; ↓ absorption Ca; ↑ concentration sérique PTH)	Ortlepp JR <i>et al.</i> , 2001
<b>apoE</b>	apoE[4]	↓ propriétés antioxydatives apoE; ↑ dépôt de lipides et de l'inflammation au niveau endothélial	Novaro GM <i>et al.</i> , 2003b
	apoE[2]		Avakian SD <i>et al.</i> , 2001
<b>apoB</b>	XbaI[X+]	↑ du niveau plasmatique de lipoprotéines et de la susceptibilité des patients à la dyslipidémie	Avakian SD <i>et al.</i> , 2001
	rs1042031[A]*	Régulation négative potentielle de la liaison du récepteur de LDL dans la protéine apoB-100	Gaudreault N <i>et al.</i> , 2011
<b>ORα</b>	PvuII [p]	Influence les niveaux des lipides et l'expression hépatique des gènes des lipoprotéines	Nordström P <i>et al.</i> , 2003
<b>TGFβ1</b>	-509[T]	Influence la cicatrisation et la formation de tissu conjonctif	Nordström P <i>et al.</i> , 2003
<b>IL-10</b>	rs1800872 (ou -592) [C]§	Régulation de l'effet anti-inflammatoire de l'IL-10 <sup>¶</sup>	Ortlepp JR <i>et al.</i> , 2004
	rs1800872 (ou -592) [A]¶		Gaudreault N <i>et al.</i> , 2011
<b>CCR5</b>	Δ32bp <sup>€</sup>	↓ réponse inflammatoire	Ortlepp JR <i>et al.</i> , 2004
<b>CTGF</b>	-447[C]	↑ prolifération d'ostéoblastes	Ortlepp JR <i>et al.</i> , 2004
<b>LRP5</b>	rs4930573[G]	↑ différenciation ostéoblastique	Eyendja C, 2011
<b>BMP2</b>	rs235737[A]	↑ prolifération de fibroblastes aortiques et renouvellement de la matrice extracellulaire; ↑différenciation ostéoblastique	Eyendja C, 2011
<b>PON1</b>	192[R]	↓ protection contre l'oxydation des LDL	Moura LM <i>et al.</i> , 2012
<b>NOTCH1</b>	R1108[X]	↓ fonction Notch1--> ↑ expression Runx2/Cbfa1--> ↑différenciation ostéoblastique	Garg V <i>et al.</i> , 2005
<b>LPA</b>	rs10455872[G]	↑ concentration Lp(a): ↑ calcification valvulaire par la stimulation de la voie TGF-β et par propriétés pro-oxydatives	Thanassoulis G <i>et al.</i> , 2013 Arsenault BJ <i>et al.</i> , 2014(b)

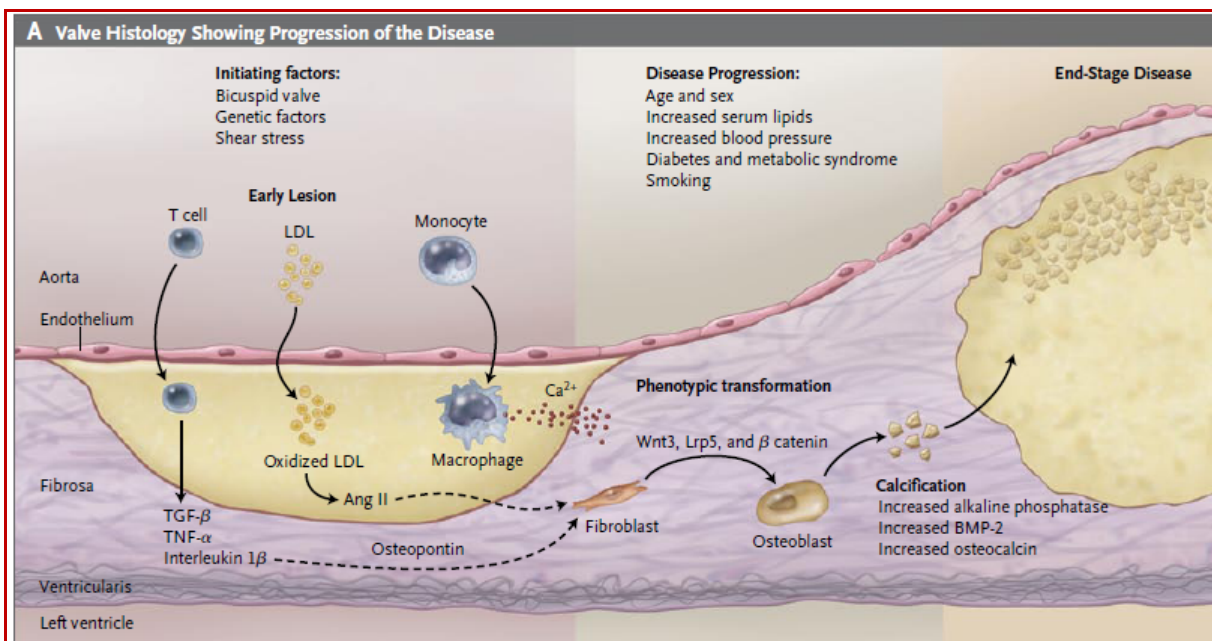
[ ] Allèle de risque; €: l'allèle de risque pour le gène CCR5 est la délétion de 32 paires de bases.

VDR: *vitamin D receptor* (récepteur de la vitamine D); apoE: apolipoprotéine E; apoB: apolipoprotéine B; ORα: oestrogen receptor α (récepteur α de l'œstrogène); TGFβ1: *transforming growth factor β1* (facteur transformant de croissance β1); IL-10: interleukine 10; CCR5: *chemokine receptor 5* (récepteur de chimiokine de type 5); CTGF: *connective tissue growth factor* (facteur de croissance du tissu conjonctif); LRP5: *LDL receptor-related protein 5* (protéine apparentée au récepteur des LDL 5); BMP2: *bone morphogenic protein 2* (protéine morphogénique des os de type 2); PON1: paraoxonase 1; NOTCH1: Notch homologue 1; LPA: lipoprotéine(a).

\*: Polymorphisme plus significatif du gène apoB entre les 2 associés à la SVA dans cette étude; §: polymorphisme plus significatif du gène IL-10 parmi les 3 associés à la SVA dans cette étude; ¶: polymorphisme plus significatif du gène IL-10 parmi les 6 associés à la SVA dans cette étude; ¶: L'orientation des allèles de risque est renversée entre les études d'Ortlepp JR *et al.*, 2004 (C: ↑ IL-10→↑ réponse anti-inflammatoire) et de Gaudreault N *et al.*, 2011 (A: ↓ IL-10→↓ réponse anti-inflammatoire).

### 2.2.6 Résumé de la physiopathologie de la SVA

Dans un concept physiopathologique possible (Figure 7), le stress mécanique élevé exercé sur les valves aortiques, associé à des facteurs de risque cliniques athérosclérotiques et à une prédisposition génétique, conduit à une dysfonction endothéliale avec interruption de la barrière endothéliale. Cet événement est suivi de dépôts de LDL dans la valve, puis de l'infiltration de cellules inflammatoires, conduisant, entre autres, à l'activation et à la transformation des cellules valvulaires interstitielles en ostéoblastes et favorisant ainsi le développement de la calcification valvulaire (Akat K *et al.*, 2009).



**Figure 7: Résumé des facteurs d'initiation, des conditions reliées à la progression de la SVA et des composantes inflammatoire, lipidique et phosphocalcique de la physiopathologie de la SVA.**

Adapté de Otto CM, 2008.

*Valve histology showing the progression of the disease* - Histologie de la valve montrant la progression de la maladie; *Initiating factors: bicuspid valve, genetic factors, shear stress* – facteurs d'initiation: valve bicuspidale, facteurs génétiques, stress de cisaillement; *Disease progression: age and sex, increased serum lipids, increased blood pressure, diabetes and metabolic syndrome, smoking* – progression de la maladie: âge et sexe, augmentation des lipides sériques, pression artérielle élevée, diabète et syndrome métabolique, tabagisme; *Early lesion* – lésion initiale; *T cell* – cellule T; *Aorta* – aorte; *endothelium* – endothélium; *left ventricle* – ventricule gauche; *interleukin 1β* – interleukine 1β; *oxidized LDL* – LDL oxydée; *osteopontin* – ostéopontine; *fibroblast* – fibroblaste; *phenotypic transformation* – transformation phénotypique; *β catenin* – caténine β; *osteoblast* – ostéoblaste; *increased alkaline phosphatase* – phosphatase alcaline augmentée; *increased BMP2* – BMP2 augmentée; *increased osteocalcin* – ostéocalcine augmentée.

## 2.3 Épidémiologie

La SVA est la troisième maladie cardiovasculaire de l'adulte la plus commune (Freeman RV *et al.*, 2004; Sverdlov AL *et al.*, 2011) et la maladie valvulaire la plus courante dans les pays industrialisés (Heistad DD *et al.*, 2013; Otto CM & Bonow RO, 2010). Sa prévalence augmente avec l'âge: on estime que 25-30% des individus âgés de plus de 65 ans ont déjà une sclérose valvulaire aortique (stage initial de la SVA, caractérisé par un épaissement focal des feuillets sans obstruction hémodynamique de la valve) et que près de 9% de cette population développe une SVA symptomatique dans les 5 ans (Cowell SJ *et al.*, 2004; Novaro GM *et al.*, 2007; Owens DS *et al.*, 2010). Par conséquent, il est estimé que 2-5% des adultes âgés développeront une SVA significative, et cette proportion augmenterait à 13% parmi les 75-85 ans (Cowell SJ *et al.*, 2004; Kupari M *et al.*, 1997; Nightingale AK & Horowitz JD, 2005; Stewart BF *et al.*, 1997). On note une prédominance masculine dans la manifestation de la SVA, où 2 patients sur 3 sont des hommes (Carabello BA & Paulus WJ, 2009).

La sclérose valvulaire aortique, auparavant pensée comme une entité relativement bénigne, est associée à une augmentation de 50% du risque d'événements cardiovasculaires (Otto CM *et al.*, 1999). Une fois sévère, la SVA a un mauvais pronostic, avec 80% de risque de décès, de développement d'insuffisance cardiaque ou de remplacement de la valve aortique (RVA) dans les 5 ans (Otto CM *et al.*, 1997).

À l'heure actuelle, aucun traitement médical n'est encore disponible pour la SVA. La seule thérapie effective demeure le soulagement de l'obstruction mécanique causée par la valve sténosée (Crawford MH *et al.*, 2009). La plastie (percutanée par ballon ou chirurgicale) de la valve aortique est recommandée pour des adolescents ou jeunes adultes avec SVA congénitale sévère non-calcifée (notamment bicuspidies). Pour les adultes avec SVA calcifiée, les résultats hémodynamiques de la plastie percutanée par ballon sont modestes et elle peut être considérée raisonnable juste comme un pont pour le RVA chez les patients instables (Bonow RO *et al.*, 2012). Le RVA (chirurgical ou par la voie percutanée) est le traitement de choix pour les adultes avec SVA calcifiée. La prise en charge courante pour ces patients se concentre donc sur le suivi du développement des symptômes afin de déterminer le meilleur moment pour le RVA (Lindman BR *et al.*, 2013).

Ainsi, le RVA par voie chirurgicale est devenu la deuxième indication la plus fréquente en chirurgie cardiaque, après les procédures de revascularisation coronarienne (Heistad DD *et al.*, 2013; Roberts WC & Ko JM, 2005), et est la première cause de remplacement valvulaire en Europe et Amérique du Nord (Iung B *et al.*, 2003; Nkomo VT *et al.*, 2006). Dans ces 2 régions, la SVA nécessitant le recours à un RVA est due soit à la présence de valve aortique bicuspidée (environ 50%), soit à une SVA calcifiée sur valve tricuspide. Une faible proportion des RVA est due à une SVA d'origine rhumatismale. Toutefois, cette dernière à une prévalence un peu plus grande dans d'autres régions du monde (Roberts WC & Ko JM, 2005).

Des études montrent une augmentation régulière du nombre de chirurgies pour le RVA dans les dernières décennies (Freeman RV & Otto CM, 2005; Northrup WF, 3rd *et al.*, 2002). Avec la croissance de la population, l'augmentation de son espérance de vie et donc son vieillissement, on peut s'attendre à une demande accrue de ces chirurgies dans le futur (Beckmann E *et al.*, 2010). Or, chaque chirurgie de RVA a un coût moyen estimé à 120000 dollars américains aux États-Unis (Rosamond W *et al.*, 2007). Ainsi, la SVA est déjà considérée comme un problème de santé publique important en Amérique du Nord et en Europe, avec un lourd fardeau socio-économique qui risque d'augmenter considérablement dans les années à venir (Bossé Y *et al.*, 2008).

## **2.4 Présentation clinique**

La SVA est une maladie graduellement progressive. Les patients peuvent rester asymptomatiques pendant plusieurs années (Selzer A, 1987). Cette pathologie est d'abord diagnostiquée par un souffle éjectionnel méso-systolique à l'examen physique, avec ou sans les symptômes qui lui sont classiquement associés, incluant l'angine, la syncope et la dyspnée d'effort (Otto CM & Bonow RO, 2010).

## **2.4.1 Symptômes**

### **2.4.1.1 Angine**

Approximativement 35% des patients avec SVA présentent l'angine comme symptôme initial (Selzer A, 1987). Dans son sens large, l'angine a lieu lorsque la demande du myocarde en oxygène excède l'offre. Il semblerait que les 2 éléments de cette équation soient affectés dans la SVA (Carabello BA, 2013).

En effet, la SVA constitue une barrière à l'éjection systolique du sang, ce qui augmente le stress systolique sur les parois du myocarde. Dans une tentative de normaliser ce stress, les parois développent une hypertrophie concentrique; le myocarde hypertrophié a alors besoin de plus d'oxygène (Otto CM & Bonow RO, 2010). Également, la réserve coronarienne, qui, suite à une augmentation de la demande en oxygène par le myocarde pendant l'exercice, permet d'augmenter le flux coronarien de plus de 6 fois grâce à une auto-régulation de la vasodilatation coronaire, peut être réduite de plus de 50% dans la SVA (Marcus ML *et al.*, 1982). Cette réduction de la réserve coronarienne est probablement le résultat d'une augmentation de la pression diastolique ventriculaire qui comprime l'endocarde, et limite ainsi le flux sous-endocardique. De plus, l'hypertrophie myocardique concentrique n'est pas accompagnée d'une croissance capillaire suffisante pour maintenir la perfusion, réduisant ainsi l'offre en oxygène au myocarde (Breisch EA *et al.*, 1984; Ishihara K *et al.*, 1992).

Ainsi, le mécanisme de l'angine dans la SVA ne semble pas être dû à une cause unique, mais plutôt à un ensemble de plusieurs variables anatomiques et pathophysiologiques (Carabello BA, 2013), pouvant avoir lieu même en absence de maladie coronarienne sous-jacente (Otto CM & Bonow RO, 2010). En plus de l'exercice, l'angine peut être précipitée par d'autres stress hémodynamiques, comme la grossesse, l'anémie ou la fièvre (Otto CM & Bonow RO, 2010).

### **2.4.1.2 Syncope**

La syncope est définie par une perte de conscience brève et réversible due à une interruption du flux sanguin au niveau cérébral (Carabello BA, 2013). Dans la SVA, elle est plus communément précipitée par l'exercice. Pendant le processus de développement de la

maladie, le patient présente habituellement des étourdissements ou vertiges avant l'apparition de la syncope (Otto CM & Bonow RO, 2010).

Plusieurs mécanismes potentiels ont été proposés pour expliquer la syncope dans la SVA, en incluant des arythmies ventriculaires pendant l'exercice et la dysfonction systolique du VG. Cependant, le mécanisme le plus probable semble être une diminution brutale de la pression artérielle due à une réponse inadéquate de l'activité des barorécepteurs du VG lors de l'exercice (Labovitz AJ *et al.*, 1986; Sambola A *et al.*, 2008; Xie GY *et al.*, 1994). En effet, l'exercice déclenche une augmentation de la pression intra-ventriculaire ce qui induit une vasodilatation périphérique *via* la stimulation des barorécepteurs du VG. Dans une situation physiologique, le débit cardiaque augmente pour maintenir la pression artérielle normale. En revanche, lors de la SVA, la restriction de l'orifice aortique ne permet pas cette augmentation de débit. Il s'ensuit alors une chute de la pression artérielle, une diminution/interruption du flux sanguin cérébral et la perte de conscience du patient (Labovitz AJ *et al.*, 1986; Sambola A *et al.*, 2008; Xie GY *et al.*, 1994). Ainsi, comme l'angine, la syncope présentée dans la SVA ne peut pas être attribuée à une seule cause, mais à plusieurs facteurs pouvant agir ensemble (Carabello BA, 2013).

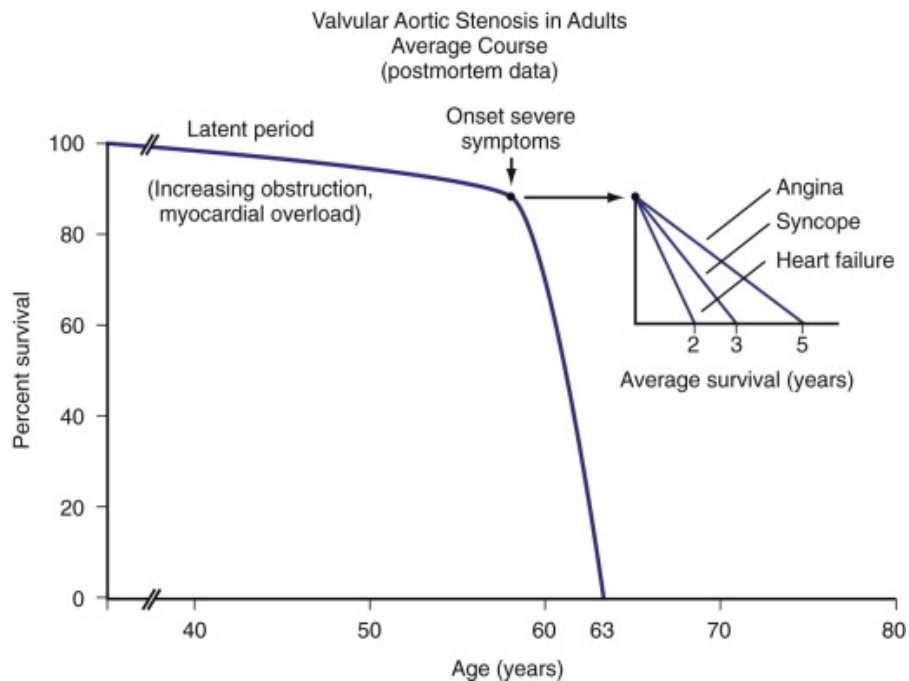
#### **2.4.1.3 Dyspnée**

Le symptôme initial de la SVA le plus commun est une diminution de la tolérance à l'exercice à cause d'une fatigue ou dyspnée d'effort (Lombard JT & Selzer A, 1987; Otto CM *et al.*, 1997). Plus fréquemment, ce symptôme est occasionné par une augmentation de la pression intra-VG à la fin de la diastole due à un ventricule hypertrophié et non-compliant. L'intolérance à l'exercice peut aussi être liée à une dysfonction systolique VG ou à une maladie coronarienne co-existante (Faggiano P *et al.*, 1995).

Avec le temps, la dyspnée d'effort peut progresser vers une insuffisance cardiaque sévère avec ou sans symptômes au repos. Toutefois, occasionnellement, les patients avec SVA sévère peuvent développer une insuffisance cardiaque ou un œdème pulmonaire aigu, le plus souvent en réponse à de nouveaux stress hémodynamiques tels qu'une infection aiguë, une anémie ou une tachyarythmie *de novo* (Otto CM & Bonow RO, 2010).

## 2.4.2 Histoire naturelle

Dans une des études les plus connues et importantes concernant la SVA, Ross et Braunwald ont démontré en 1968 à partir d'autopsies, que les patients atteints de SVA présentaient une longue période latente asymptomatique pendant laquelle leur survie était proche de celle de la population générale. En revanche, à l'apparition des symptômes vers l'âge de 60 ans, la survie diminuait abruptement (Figure 8) (Ross J, Jr. & Braunwald E, 1968).



**Figure 8: Histoire naturelle de la SVA.**

Adapté de Ross J Jr & Braunwald E, 1968.

*Valve aortic stenosis in adults average course (post-mortem data)* - Durée moyenne de la sténose valvulaire aortique chez les adultes (données d'autopsie); *Latent period* – période latente; *onset severe symptoms* – apparition des symptômes sévères; *Angina, syncope, heart failure* – angine, syncope, insuffisance cardiaque; *Increasing obstruction, myocardial overload* – obstruction croissante, surcharge du myocarde; *Average survival (years)* – survie moyenne (années); *Percent survival* – Pourcentage de survie; *Age (years)* – âge (années).

De nos jours, l'apparition des symptômes laisse encore présager un mauvais pronostic si le remplacement de la valve n'est pas réalisé. Toutefois, l'âge moyen d'apparition des symptômes a augmenté de près de 15 ans (de  $\approx 60$  ans à  $\approx 75$  ans) ce qui démontre un

changement de la pathogénie de la SVA: auparavant plus souvent d'origine rhumatismale et congénitale, la SVA est maintenant plus fréquemment d'origine dégénérative (Carabello BA, 2013). D'autres études sur l'histoire naturelle de la SVA non-opérée ont démontré que, en plus de l'apparition des symptômes, la progression hémodynamique de la maladie est aussi un indicateur de sévérité. Le pronostic est mauvais dès lors que la vitesse transvalvulaire aortique maximale atteint  $> 4$  m/s, laquelle correspond à un gradient transvalvulaire aortique moyen  $> 40$  mmHg (Nishimura RA *et al.*, 2014).

## 2.5 Diagnostic et suivi

### 2.5.1 Examen physique

Les éléments essentiels de l'examen physique des patients avec suspicion de SVA sont: la palpation de l'amplitude et le contour du pouls carotidien; l'évaluation du choc apexien; l'auscultation de la localisation, de l'intensité, du rythme et de la radiation du souffle systolique; l'évaluation de la distinction du deuxième bruit cardiaque; et la vérification de la présence ou non des signes d'insuffisance cardiaque (Eddleman EE, Jr. *et al.*, 1973; Jaffe WM *et al.*, 1988).

La durée et l'amplitude du contour du pouls carotidien reflètent la pression aortique centrale et ont une bonne corrélation avec la sévérité de la SVA. Avec le développement d'une SVA de plus en plus sévère, le pic de la pression aortique a lieu plus tardivement dans la systole (*pulsus tardus*) et l'amplitude du pouls est diminuée (*pulsus parvus*) (Bonner AJ, Jr. *et al.*, 1973; Munt B *et al.*, 1999). Quand présent, cette manifestation est spécifique d'une SVA sévère. Toutefois, plusieurs patients ont des conditions concomitantes (comme régurgitation aortique et hypertension artérielle) lesquelles ont un effet sur la courbe de pression artérielle et l'impulse carotidien. Également, chez la personne âgée, la présence de maladie vasculaire athérosclérotique (MVAS) et de rigidité carotidienne peut masquer le pouls *parvus-tardus*. Ainsi, un impulse carotidien apparemment normal n'est pas fiable pour exclure le diagnostic de SVA sévère (Bonow RO *et al.*, 2012).

Chez l'adulte normal (en décubitus dorsal sur un plan incliné à  $45^{\circ}$ ), le choc apexien est perçu au 5<sup>ème</sup> ou 6<sup>ème</sup> space intercostal gauche sur la ligne médio-claviculaire et il se



caractérise par une courte impulsion transitoire (Epstein O *et al.*, 1997). Dans le cas d'hypertrophie ventriculaire gauche concentrique (fréquente chez la SVA), le choc apexien garde habituellement la même localisation mais il est plutôt soutenu (ou en dôme) et puissant, en présentant souvent un dédoublement contemporain d'une contraction auriculaire gauche exagérée (Epstein O *et al.*, 1997; Crawford MH *et al.*, 2009). Avec le développement d'insuffisance ventriculaire gauche, le choc apexien devient étalé et se déplace inférieurement et latéralement (Bonow RO *et al.*, 2012).

Le souffle systolique de la SVA est plus fort, le plus souvent à la base, sous le second espace intercostal près du rebord sternal. En général, la force du souffle a une bonne relation avec la vitesse du jet ou le gradient de pression entre l'aorte et le VG. La présence de vibration systolique sur le foci aortique (souffle grade IV) est très spécifique pour une obstruction valvulaire sévère. De la même façon, la présence de SVA sévère serait très peu probable avec un souffle de grade I (Aronow WS & Kronzon I, 1991; Munt B *et al.*, 1999). Les difficultés d'analyse de la sévérité de la SVA par auscultation résident dans les souffles de grade intermédiaire (II-III), pour lesquels il y a un chevauchement considérable des différents stades de la maladie. Dans ce cas, une évaluation supplémentaire est indiquée en fonction du stade clinique (Lombard JT & Selzer A, 1987; Munt B *et al.*, 1999). De plus, la force du souffle est modulée non seulement par le gradient de pression transvalvulaire aortique, mais également par le flux de volume à travers la valve, la transmission du souffle à la paroi thoracique et la direction du flux turbulent. Ainsi, le souffle peut être doux même en présence de SVA sévère si le débit cardiaque est bas ou si l'obésité et/ou maladies pulmonaires diminuent sa transmission à la paroi thoracique (Lombard JT & Selzer A, 1987; Munt B *et al.*, 1999). Le souffle de la SVA a un patron d'amplitude *crescendo-decrescendo* (« en diamant ») qui correspond au format de la différence de pression entre l'aorte et le VG pendant la période d'éjection. Avec l'intensification progressive de la SVA, le gradient maximal a lieu plus tard dans la systole, donc un souffle avec un pic plus tardif peut être reconnu à l'auscultation. Généralement, le souffle de la SVA irradie la région des artères carotides en raison du jet dirigé supérieurement dans l'aorte ascendante. Chez une minorité de patients, le souffle s'irradie à l'apex, ce qui est connu comme le phénomène de Gallavardin (Perloff JK 1982).

Le second bruit cardiaque est typiquement diminué dans la SVA sévère en raison de l'épaississement des feuillets aortiques. Le quatrième bruit cardiaque peut être entendu chez

plusieurs patients avec SVA en raison d'une contribution atriale plus importante pour le remplissage ventriculaire compte tenu des pressions ventriculaires augmentées en fin de diastole (Caulfield WH *et al.*, 1971). Si une décompensation hémodynamique est déjà présente, on peut aussi retrouver des signes typiques d'insuffisance cardiaque chez des patients avec SVA sévère (Otto CM & Bonow RO, 2010).

## **2.5.2 L'échocardiographie transthoracique**

L'échocardiographie transthoracique est indiquée chez les patients avec SVA pour le diagnostic précis de la cause de la maladie, de sa sévérité hémodynamique et de la taille/fonction du VG; ainsi que pour le suivi de la progression de la SVA et la détermination du pronostic et du moment adéquat pour une intervention sur la valve (Nishimura RA *et al.*, 2014). Les décisions cliniques sont prises à partir de l'analyse échocardiographique de la sévérité de la maladie et de ses conséquences (Baumgartner H *et al.*, 2009; Nishimura RA *et al.*, 2014). Cette évaluation est généralement effectuée en 3 temps: la visualisation de la valve aortique, la quantification de la sévérité hémodynamique de la SVA et l'identification d'autres anomalies cardiaques occasionnées par ou en lien avec la SVA (Otto CM, 2012).

### **2.5.2.1 Visualisation de la valve aortique**

Le premier pas dans l'évaluation de la SVA par l'échocardiographie est la visualisation de la valve aortique. Lorsqu'elle est sténosée, la valve aortique est caractérisée par des feuillets épaissis et calcifiés, avec une diminution de son ouverture systolique et une réduction du mouvement des feuillets (Otto CM, 2012).

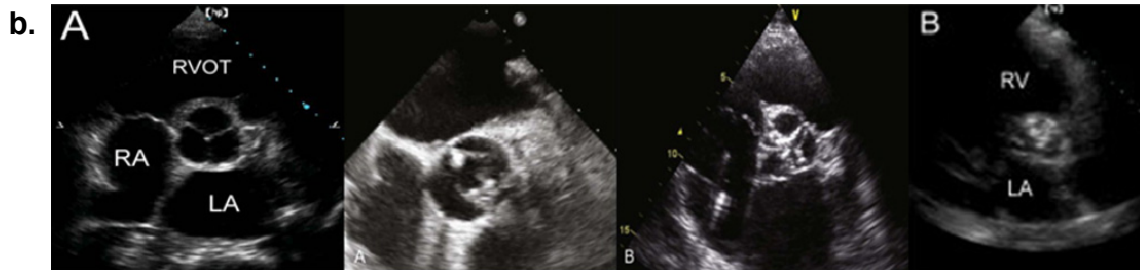
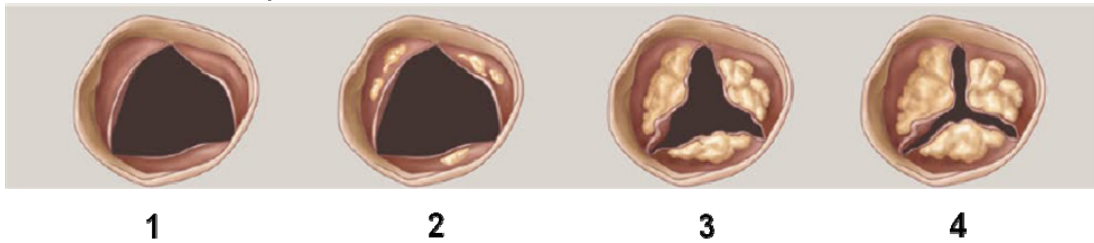
On vérifie ensuite s'il s'agit d'une SVA sur valve tricuspide, d'origine congénitale ou occasionnée par une maladie rhumatismale (Figure 6). La fenêtre échocardiographique préférentielle pour cette différenciation est la parasternale en court-axe (vision transversale de la valve) (Otto CM, 2013). La valve aortique bicuspidie est caractérisée par la présence de 2 cuspides habituellement de tailles différentes et où la cuspide la plus grande contient fréquemment un raphé qui correspond à la ligne de fusion entre 2 cuspides. Quelques fois, un raphé proéminent peut rendre difficile la différenciation d'une valve tricuspide et il est donc nécessaire de visualiser la valve pendant son ouverture. Typiquement, les cuspides des valves aortiques bicuspidies sont orientées d'une manière antéropostérieure ou droite-gauche (Otto

CM, 2008). La SVA d'origine rhumatismale est caractérisée par la fusion commissurale, un épaissement des bords des cuspides et quelques fois leur rétraction. La régurgitation aortique et la maladie mitrale sont communes dans la SVA d'origine rhumatismale.

Un autre point important à évaluer pendant la visualisation de la valve est son niveau de calcification. Celle-ci peut être classée comme légère (petits points de calcification isolés), modérée (points plus grands et multiples) et sévère (calcification et épaissement extensifs de tous les feuillets) – voir Figure 9 (Rosenhek R *et al.*, 2000). En raison de son importance pronostique (Rosenhek R *et al.*, 2000; Rosenhek R *et al.*, 2004a), le niveau de calcification valvulaire doit être décrit de routine; la fenêtre échocardiographique parasternale court-axe étant la meilleure pour son évaluation. En cas de calcification extensive, la différenciation entre les différentes étiologies de la SVA peut s'avérer difficile (Otto CM, 2012).

**a. Aortic valve anatomy**

**Otto. 2008**



**c. Score of the degree of calcification of the aortic valve**

**Rosenhek. 2000**

- 1. No calcification**
- 2. Mildly calcified (small isolated spots)**
- 3. Moderately calcified (multiple larger spots)**
- 4. Heavily calcified (extensive thickening and calcification of all cusps)**

**Figure 9: Classification du niveau de calcification valvulaire aortique proposé par Rosenhek *et al.***

- a.** Niveaux de calcification valvulaire aortique représentés par schéma (adapté d'Otto CM, 2008). *Aortic valve anatomy* – anatomie valvulaire aortique.
- b.** Niveaux de calcification valvulaire aortique à l'échocardiographie. **1 et 4** : adaptés de Feigenbaum H, 2004. **2 et 3**: adaptés de Otto CM, 2012. *RA*: right atrium – oreillette droite; *LA*: left atrium – oreillette gauche; *RVOT*: right ventricle outlet tract – chambre de chasse du ventricule droit.
- c.** Description des niveaux de calcification proposés par Rosenhek *et al* (adapté de Rosenhek R *et al.*, 2000). *Score of the degree of calcification of the aortic valve* – score du degré de calcification de la valve aortique; *no calcification* – pas de calcification; *mildly calcified (small isolated spots)* – légèrement calcifiée (petites tâches isolées); *moderately calcified (multiple larger spots)* - modérément calcifiée (plusieurs grandes tâches); *heavily calcified (extensive thickening and calcification of all cusps)* – fortement calcifiée (épaississement et calcification extensive de tous les feuillets)

### 2.5.2.2 Quantification de la sévérité hémodynamique de la SVA

La sévérité hémodynamique de la SVA peut être déterminée avec précision en utilisant des équations dérivées de la dynamique des fluides dans une valve sténosée. L'évaluation standard de la sévérité hémodynamique de la SVA inclut comme mesures principales: la vitesse transvalvulaire aortique maximale, le gradient transvalvulaire aortique moyen et l'aire valvulaire aortique par l'équation de continuité (Otto CM, 2013). Ces mesures permettent de classer la SVA hémodynamiquement en légère, modérée ou sévère (Nishimura RA *et al.*, 2014) - voir Tableau II (section 2.5.4).

#### 2.5.2.2.1 Vitesse transvalvulaire aortique maximale

La vitesse transvalvulaire aortique maximale est la mesure clé dans l'évaluation échocardiographique d'un patient avec SVA. La vitesse du jet seule est le paramètre prédicteur le plus fort pour établir un pronostic, la mesure la plus fiable et reproductible pour des études de suivi sériées et est un élément important dans la prise de décision clinique pour un RVA (Otto CM, 2013).

Étant donné les hautes vitesses rencontrées dans la SVA (habituellement 3-6 m/s), la modalité d'ultrasons Doppler en continu (*continuous wave – CW Doppler*) est nécessaire pour enregistrer son signal. Pour une mesure précise, le faisceau d'ultrasons et la direction du jet doivent être alignés. On doit aussi faire la mesure en plusieurs points (au moins par la voie apicale, supra-sternale et parasternale droite haute) et choisir la mesure la plus rapide où l'enveloppe Doppler est bien définie, lisse et régulière. La vitesse maximale est mesurée sur l'apex de la courbe (voir Figure 10) (Otto CM, 2013).

#### 2.5.2.2.2 Gradient transvalvulaire aortique moyen

Le gradient transvalvulaire aortique maximal ( $\Delta P_{\max}$ ) peut être calculé à partir de la vitesse transvalvulaire aortique maximale ( $V_{\max}$ ) en utilisant l'équation de Bernoulli simplifiée (Otto CM, 2013):

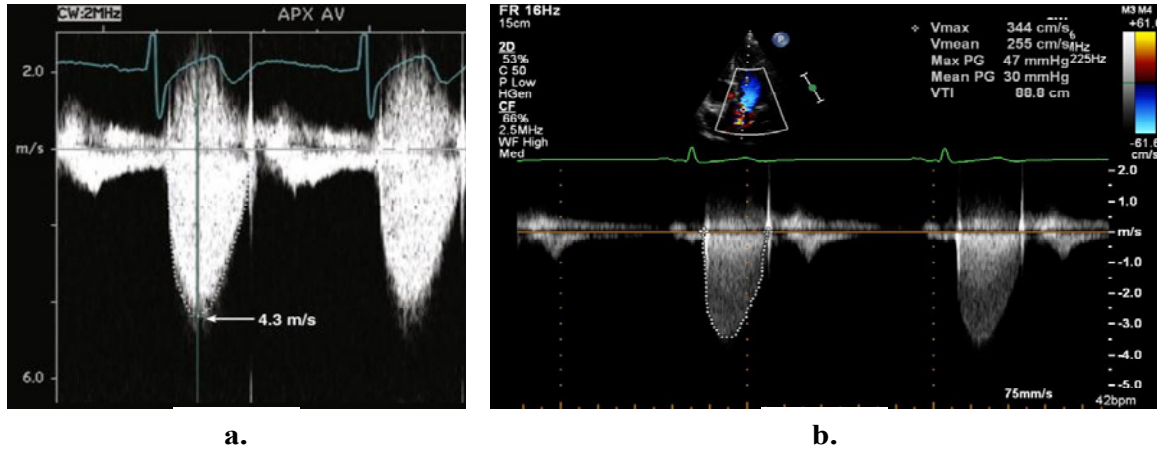
$$\Delta P_{\max} = 4(V_{\max})^2$$

L'équation de Bernoulli est basée sur le principe de la conservation d'énergie dans un système fermé. Dans la pratique clinique, on peut utiliser son format simplifié, qui ignore les pertes visqueuses et les effets de l'accélération du flux; ceux-ci étant négligeables dans cette situation (Otto CM, 2012).

Le gradient transvalvulaire aortique moyen ( $\Delta P_{\text{moy}}$ ) est calculé par l'intégrale du gradient maximal pendant toute la durée de l'intervalle éjectionnel systolique. Ce calcul est fait automatiquement par l'appareil d'échocardiographie (Figure 10), mais on pourrait obtenir une bonne approximation de sa valeur à partir de la vitesse transvalvulaire aortique maximale ou du gradient transvalvulaire aortique maximal en utilisant les équations suivantes (Otto CM, 2012):

$$\Delta P_{\text{moy}} = 2,4 \times V_{\text{max}}^2 \quad \text{et} \quad \Delta P_{\text{moy}} = (\Delta P_{\text{max}} / 1,45) - 2,2$$

Il a été démontré au cours d'études expérimentales et cliniques, que ces gradients dérivés du Doppler ont une bonne corrélation avec des gradients de pression mesurés de manière invasive (Currie PJ *et al.*, 1986; Currie PJ *et al.*, 1985; Hatle L *et al.*, 1980; Hegrenaes L & Hatle L, 1985; Otto CM *et al.*, 1988; Stamm RB & Martin RP, 1983). Toutefois, les gradients de pression dépendent aussi du débit volumique et du niveau de rétrécissement de la valve. Ainsi, ils peuvent augmenter dans des situations où le volume d'éjection systolique augmente (ex: exercice, anxiété) et inversement (ex: sédation, hypovolémie) (Otto CM, 2013). Ceci peut conduire à des conclusions erronées sur la sévérité de la SVA chez des patients ayant des conditions chroniques qui augmentent (ex: régurgitation aortique concomitante) ou diminuent (ex: dysfonction systolique du VG) le volume d'éjection systolique ou qui favorisent une variabilité constante de ce volume (ex: arythmies). Ainsi, il est important de ne pas s'arrêter uniquement aux mesures dépendantes du flux mais d'évaluer également une mesure relativement indépendante de celles-ci qui est le calcul de l'aire valvulaire aortique (AVA) (Otto CM, 2012).



**Figure 10: Mesures par Doppler de la vitesse transvalvulaire aortique maximale (a et b) et calcul des gradients transvalvulaires aortiques maximal et moyen (b).**

Adaptés de Otto CM, 2013 (a) et de Protocols and Guidelines. British Society of Echocardiography ([www.bsecho.org](http://www.bsecho.org))(b).

### 2.5.2.2.3 Aire valvulaire aortique

L'AVA peut être calculée (Figure 11) en utilisant le principe de la continuité du flux qui assume que le volume d'éjection (*stroke volume - SV*) directement proximal à la valve aortique, dans la chambre de chasse du VG (*left ventricular outflow tract - LVOT*), est égal au volume d'éjection passant par l'orifice valvulaire aortique sténotique (*aortic stenosis - AS jet*):

$$SV_{LVOT} = SV_{AS\ jet} \text{ (Otto CM, 2013).}$$

Si le flux est laminaire et le profil de la vitesse est plat, le volume d'éjection est égal au produit de la surface en coupe transversale du flux (*cross-sectional area - CSA*) par l'intégrale de la vitesse par le temps (*velocity-time integral - VTI*). Comme le flux proximal à la valve aortique ainsi que le flux à l'intérieur de celle-ci répondent à ces conditions, on peut affirmer que:

$$CSA_{LVOT} \times VTI_{LVOT} = CSA_{AS\ jet} \times VTI_{AS\ jet} \text{ (Otto CM, 2013)}$$

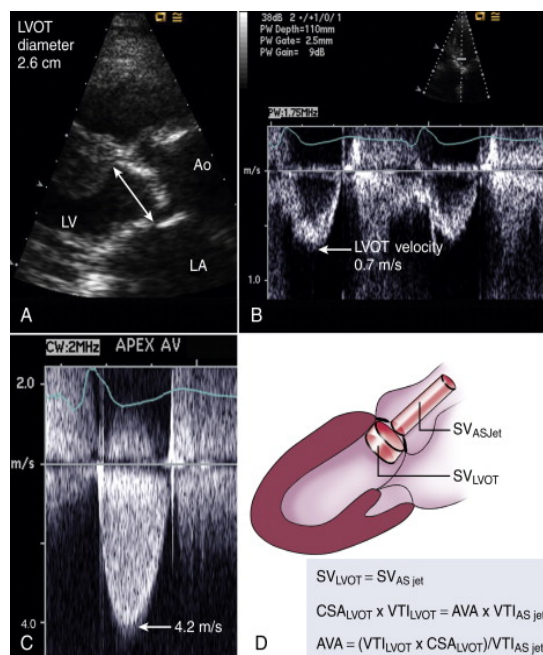
Toutes les variables de cette dernière équation peuvent être mesurées à l'échocardiographie par 2D ( $CSA_{LVOT}$ ) ou Doppler ( $VTI_{LVOT}$  et  $VTI_{AS\ jet}$ ), à l'exception de  $CSA_{AS\ jet}$  qui correspond à l'AVA. Pour obtenir la  $CSA_{LVOT}$  on mesure le diamètre de la chambre de chasse à la fenêtre parasternale longitudinale pour calculer une surface transversale circulaire dans cette région. Pour avoir la VTI de la chambre de chasse, on mesure la vitesse spécifiquement à cet endroit en utilisant le Doppler pulsé. Dans le cas de la VTI au niveau de la valve aortique, on mesure la vitesse maximale avec le Doppler en continu. Si on réarrange les éléments de l'équation décrite ci-dessus (Figure 11) (Otto CM, 2013):

$$AVA = (CSA_{LVOT} \times VTI_{LVOT}) / VTI_{AS\ jet}$$

Dans le contexte clinique, on peut faire la substitution des VTI pour les vitesses maximales mesurées. Ainsi, l'équation de continuité simplifiée, utilisée habituellement pour le calcul de l'AVA, est (Otto CM, 2013):

$$AVA = (CSA_{LVOT} \times V_{LVOT}) / V_{AS\ jet}$$





**Figure 11: Calcul de l'aire valvulaire aortique (AVA) par l'équation de continuité.**

Adapté de Otto CM, 2013.

*LVOT diameter* – diamètre de la chambre de chasse; LV: left ventricle – ventricule gauche; Ao – aorte; LA – left atrium: oreillette gauche; *LVOT velocity* – vitesse à la chambre de chasse; *SV* – stroke volume: volume d'éjection; *CSA* – cross-section area : surface en coupe transversale; *AS* – aortic stenosis jet: flux de la SVA.

Certains cliniciens recommandent l'indexation de l'AVA par rapport à la surface corporelle (AVA indexée - AVAi) afin de garder en considération qu'on doit s'attendre à des AVA plus petites pour des patients plus petits. Toutefois, cette indexation peut être inappropriée pour les patients avec surpoids ou obésité. Dans ces conditions, il est intéressant d'utiliser le ratio de la vitesse à la chambre de chasse sur la vitesse à la valve aortique, avec indexation de ce rapport à la taille de la propre chambre de chasse du patient. Un ratio normal est proche de 1, tandis qu'un ratio de 0,25 indique une SVA sévère, avec une aire à 25% de la normale (Lindman BR *et al.*, 2013).

La mesure directe par planimétrie de l'AVA est possible, particulièrement avec l'échocardiographie trans-œsophagienne ou 3D, mais la précision de cette méthode est limitée en raison de l'anatomie non-planaire de la valve aortique sténosée et des ombres et réverbérations acoustiques dues à la calcification de la valve (Lindman BR *et al.*, 2013).

### 2.5.2.3 Identification d'autres anomalies cardiaques

L'échocardiographie peut aussi évaluer les conséquences de la SVA sur la structure et la fonction cardiaque (Baumgartner H *et al.*, 2009). Elle peut également vérifier si des conditions dans d'autres structures cardiovasculaires habituellement associées à la SVA sont présentes (Lindman BR *et al.*, 2013).

#### 2.5.2.3.1 Hypertrophie concentrique du ventricule gauche

L'hypertrophie concentrique est la réponse initiale du VG à la surcharge de pression chronique induite par la SVA. Elle se caractérise par une augmentation de la masse du VG avec un épaissement croissant des parois, évitant ainsi une dilatation de la chambre (Otto CM, 2013). Cette hypertrophie est obtenue *via* l'augmentation de la masse cellulaire (multiplication des sarcomères des cardiomyocytes en parallèle) (Grossman W *et al.*, 1975) et l'augmentation du volume de collagène dans la matrice interstitielle (Hess OM *et al.*, 1984; Villari B *et al.*, 1993) et de fibrose interstitielle (Lindman BR *et al.*, 2013). L'hypertrophie concentrique tend à diminuer le stress dans les parois du VG car :

$$\text{Stress de la paroi} \approx (R/E) \times T$$

(où R = rayon du VG, E = épaisseur de la paroi et T = tension dans le VG) (Otto CM, 2013).

Chez certains patients, le niveau d'hypertrophie peut apparaître plus grand que prévu par rapport à la sévérité de la SVA. D'autres causes d'hypertrophie doivent alors être suspectées, comme l'hypertension, la cardiomyopathie hypertrophique concomitante ou un processus d'infiltration du myocarde (Otto CM, 2012). D'autres individus peuvent également présenter un autre schéma connu de remodelage concentrique, où l'épaisseur des parois du VG est augmentée mais pas la masse du VG, générant une diminution de la chambre du VG (Hachicha Z *et al.*, 2007; Kupari M *et al.*, 2005).

L'échocardiographie peut évaluer l'hypertrophie d'une manière précise et fiable. La masse du VG est calculée à partir du contour de l'épicarde et de l'endocarde à la fin de la diastole et peut être indexée à la surface corporelle. L'épaisseur relative de la paroi (*relative wall thickness- RWT*) est une autre mesure utile et simple pour évaluer le niveau d'hypertrophie

(Otto CM, 2013). Elle correspond au ratio de l'épaisseur de la paroi sur le rayon du VG et peut être calculée de 2 manières:

$$\frac{(\text{Épaisseur du septum interventriculaire} + \text{épaisseur de la paroi postérieure VG})}{\text{diamètre du VG en fin-diastole}}$$

ou

$$[2 \times (\text{épaisseur de la paroi postérieure du VG})] / \text{diamètre du VG en fin-diastole}.$$

Si le RWT et la masse du VG sont augmentés, on a une hypertrophie concentrique du VG; si le RWT est augmenté et la masse est normale, on rencontre plutôt un remodelage concentrique du VG; si le RWT est normal et la masse augmentée, on visualise une hypertrophie excentrique du VG, plus commune dans le contexte de l'insuffisance cardiaque (Feigenbaum H 2004).

#### **2.5.2.3.2 Dysfonction diastolique du ventricule gauche**

Dans les situations pathologiques, l'hypertrophie concentrique est invariablement associée à la présence de dysfonction diastolique du VG (Carabello BA, 2013). La diastole peut être généralement divisée en 4 étapes: relaxation isovolumétrique active du VG, remplissage rapide initial du VG, diastase (ou remplissage lent du VG) et contraction auriculaire (ou remplissage rapide tardive du VG). Les 3 dernières étapes caractérisent le remplissage passif du VG (Kapila R & Mahajan RP 2009). Les patients ayant une hypertrophie concentrique (très commun dans la SVA), présentent un temps de relaxation isovolumétrique prolongé et une vitesse de remplissage réduite au début de la diastole, caractérisant une dysfonction diastolique légère. Ces changements sont semblables à ceux rencontrés chez les patients avec une hypertension systémique (Gallino RA *et al.*, 1989; Hess OM *et al.*, 1984; Otto CM *et al.*, 1989; Villari B *et al.*, 1993). La dysfonction diastolique du VG a ainsi lieu tôt dans l'évolution de la SVA et précède habituellement les manifestations de dysfonction systolique du VG (Douglas PS *et al.*, 1989).

On peut évaluer la dysfonction diastolique du VG à l'échocardiographie par l'analyse des vitesses de remplissage diastolique du VG au Doppler, ou par l'intermédiaire du Doppler tissulaire de la base du VG (septum et paroi latérale) pendant la diastole, ou par l'évaluation des vitesses de remplissage de l'oreillette gauche au Doppler à partir des veines pulmonaires (Feigenbaum H 2004). Au cours de l'évolution de la SVA, avec la persistance de la surcharge de pression chronique au niveau du VG, la dysfonction diastolique peut s'aggraver en un stade modéré ou sévère (Otto CM *et al.*, 1989).

#### **2.5.2.3.3 Dysfonction systolique du ventricule gauche**

La dysfonction systolique du VG apparaît habituellement tardivement dans l'évolution de la maladie (Otto CM, 2012). La surcharge de pression persistante occasionne un dommage myocardique qui conduit à la réduction de la contractilité et à l'insuffisance cardiaque. Les raisons pour lesquelles la surcharge de pression déclenche ce dommage myocardique restent encore indéterminées et plusieurs mécanismes ont été proposés dont l'ischémie intermittente (l'hypertrophie dans la SVA est associée à des anomalies de la microcirculation coronarienne) (Rajappan K *et al.*, 2002), des défauts du métabolisme du calcium, la densification des microtubules du myocarde et l'apoptose (Hein S *et al.*, 2003; Olivetti G *et al.*, 1997; Tsutsui H *et al.*, 1993).

La fonction systolique du VG est évaluée par échocardiographie de manière exhaustive, autant quantitativement que qualitativement. La fraction d'éjection, qui est la mesure la plus importante pour déterminer le statut de la fonction systolique du VG, a des implications pronostiques pour les patients avec SVA (Otto CM, 2012, 2013).

Chez un patient avec une dysfonction systolique du VG significative, l'évaluation du niveau de sévérité de la SVA peut s'avérer difficile. Même si la sténose est sévère, les gradients de pression peuvent être bas à cause d'un débit transaortique diminué déterminé par la fraction d'éjection réduite. Inversement, bien que la mesure de l'AVA soit moins dépendante du flux que les gradients de pression, elle peut varier en fonction du flux, donnant l'impression que l'aire est plus diminuée qu'elle ne l'est véritablement (Feigenbaum H 2004) (Otto CM, 2012, 2013).

La situation décrite ci-dessus caractérise la SVA avec des débits et des gradients bas (*low-output, low gradient aortic stenosis*). L'échocardiographie de stress à la dobutamine (augmentation de la force de contraction du VG et par conséquent du flux transaortique) peut aider à clarifier la question de la sévérité de la SVA: une augmentation significative de l'AVA occasionnée par l'augmentation du flux transaortique indique des feuillets flexibles et donc une SVA de classe légère à modérée), tandis qu'une AVA fixe laisse entrevoir des feuillets rigides qui ne s'ouvrent plus, donc une SVA sévère véritablement (Feigenbaum H 2004) (Otto CM, 2012, 2013).

#### **2.5.2.3.4 Autres maladies valvulaires associées**

Un grand pourcentage des patients avec SVA (approximativement 80%) présente aussi une régurgitation aortique, plus fréquemment de type légère à modérée. L'échocardiographie permet la vérification de la présence de régurgitation aortique et la détermination adéquate de sa sévérité véritablement (Feigenbaum H 2004) (Otto CM, 2013).

La régurgitation mitrale, majoritairement de type légère, est également fréquente parmi les patients avec SVA ( $\approx 90\%$ ). On attribue ce phénomène à la présence de calcifications de l'anneau mitral (présente dans approximativement 50% des patients avec SVA) (Otto CM *et al.*, 1997). Cette condition est également bien identifiée et évaluée par échocardiographie (Feigenbaum H 2004) (Otto CM, 2013).

Finalement, s'il s'agit d'une SVA d'origine rhumatismale, on vérifiera à travers l'examen échocardiographique s'il y a une sténose, une régurgitation ou une maladie mixte associée de la valve mitrale ou de la valve tricuspide (Feigenbaum H 2004) (Otto CM, 2013).

#### **2.5.2.3.5 Dilatation de l'aorte**

L'échocardiographie permet l'évaluation de l'anneau aortique, de la racine aortique et de l'aorte ascendante. La dilatation de l'aorte au niveau des sinus de Valsalva est fréquemment présente dans la SVA, particulièrement chez les cas de valves bicuspidés (50%). Bien que le concept d'une dilatation post-sténotique liée aux conditions hémodynamiques soit accepté, il semblerait que des facteurs génétiques conduisant à des anomalies du tissu aortique au niveau

de la media contribuent essentiellement à la dilatation chez les patients avec valves bicuspidés, tandis que les facteurs de risques athérosclérotiques, dont l'hypertension, joueraient un rôle chez les patients avec valves tricuspides (Lindman BR *et al.*, 2013; Otto CM, 2012). Par ailleurs, chez les patients avec SVA d'origine bicuspidie, la présence de coarctation de l'aorte doit être systématiquement vérifiée par l'échocardiographie, ainsi que d'autres conditions possiblement associées à la bicuspidie comme la persistance du canal artériel ou une communication inter-ventriculaire (Otto CM, 2012).

#### **2.5.2.3.6 Hypertension pulmonaire et dilatation de l'oreillette gauche**

Le développement de dysfonction diastolique, et éventuellement de dysfonction systolique, chez les patients avec SVA conduit à une pression chroniquement élevée du VG en fin de diastole. Une élévation de la pression peut alors être rencontrée dans l'oreillette gauche et, rétroactivement, dans les artères pulmonaires, générant ainsi une augmentation de la taille de l'oreillette gauche et le développement d'hypertension pulmonaire. Une fréquence considérable de ces deux conditions a été rencontrée par des études chez les patients avec SVA modérée ou sévère: 32% pour l'augmentation de la taille de l'oreillette gauche (Casaclang-Verzosa G *et al.*, 2010); et 26,5% et 29,6% (Ahn HS *et al.*, 2014 et Mutlak D *et al.*, 2012 respectivement) pour l'hypertension pulmonaire. Ces 2 conditions doivent ainsi être vérifiées chez les patients avec SVA par l'échocardiographie (Otto CM, 2013; Otto CM & Bonow RO, 2010) (Feigenbaum H 2004).

### **2.5.3 Autres examens complémentaires**

#### **2.5.3.1 Électrocardiographie de repos et d'effort**

L'électrocardiographie (ECG) de repos chez les patients avec SVA permet généralement d'observer l'hypertrophie VG. Cependant, la corrélation entre la sévérité de la SVA et l'observation à l'ECG de l'hypertrophie VG est relativement faible et donc l'absence de critères électrocardiographiques de l'hypertrophie VG n'exclut pas le diagnostic d'une SVA, même sévère (Braunwald E 1963) (Hugenholtz PG *et al.*, 1962).

D'autres paramètres ECG non-spécifiques associés à la SVA peuvent également être observés à savoir une augmentation de l'oreillette gauche, une déviation gauche de l'axe cardiaque et un bloc de branche gauche. Quelques études ont suggéré une corrélation entre des changements des ondes T à l'ECG et le niveau de sévérité de la SVA, mais cette observation ne s'est pas révélée fiable dans la pratique clinique (Abdin ZH, 1958; Fowler RS, 1965).

Dans l'ECG d'effort, aussi connue comme test de stress, la dépression du segment ST est commune chez les patients avec SVA et des dépressions significatives ( $> 1\text{mm}$  avec profil plat ou descendant) sont observées chez approximativement 2/3 des patients avec SVA, même si celle-ci est légère-moderée. De plus, environ 50% des patients ayant un ECG de repos normal manifestent des dépressions du segment ST avec l'exercice. Ainsi, la présence ou la sévérité des changements du segment ST observés à l'ECG d'effort chez les patients avec SVA n'ont pas de corrélation avec la présence ou l'absence de maladie coronarienne concomitante (Otto CM *et al.*, 1997).

La principale indication de l'ECG d'effort dans le contexte de la SVA est donc la mesure objective de la capacité d'exercice d'un individu asymptomatique (l'examen est contre-indiqué pour les patients avec des symptômes déjà établis ou dans le cas de SVA critique, même si asymptomatique). Cet examen est utile (1) pour définir les paramètres d'un programme d'exercice sans risque, (2) pour clarifier le stade réel des symptômes quand leur présence n'est pas claire et, surtout, (3) pour permettre la stratification du risque spontané et prédire le pronostic des patients asymptomatiques avec SVA sévère. Un test d'effort normal indique une probabilité très basse de développer des symptômes ou des complications de la SVA dans les prochains 6-12 mois (Alborino D *et al.*, 2002; Amato MC *et al.*, 2001; Das P *et al.*, 2005). En revanche, l'apparition de symptômes clairs pendant l'exercice suggère une forte probabilité de développer des symptômes ou des complications dans les 12 mois, surtout chez les patients actifs  $< 65$  ans (Das P *et al.*, 2005). L'examen doit être immédiatement arrêté en cas de chute de la pression artérielle, d'apparition des symptômes ou d'arythmies significatives (Otto CM & Bonow RO, 2010).

### 2.5.3.2 Cathétérisme cardiaque et coronarographie

Chez la majorité des patients avec SVA, les données diagnostiques, incluant la quantification de la sévérité de la sténose, peuvent être obtenues d'une manière non-invasive par l'échocardiographie couplée au Doppler (Otto CM & Bonow RO, 2010). Le cathétérisme cardiaque doit donc être considéré seulement si les données échocardiographiques ou provenant d'autres examens non-invasifs sont non-diagnostiquées ou si elles sont en contradiction avec les données cliniques (Lindman BR *et al.*, 2013).

La coronarographie demeure nécessaire pour la plus grande partie des patients avec SVA pour lesquels on veut exclure définitivement la présence concomitante de MCAS, notamment pour ceux qui seront soumis à un RVA. La présence de MCAS pluritronculaire sévère pourrait être une indication relative pour un RVA par la voie chirurgicale combiné avec pontage coronarien (Dewey TM *et al.*, 2010). La réalisation d'un RVA par la voie percutanée précédé ou suivi par revascularisation percutanée pourrait être considérée comme une alternative (Masson JB *et al.*, 2010). On estime que  $\approx 50\%$  des individus avec SVA sévère symptomatique ont aussi une MCAS significative. L'ECG d'effort n'est pas adéquat pour le diagnostic de maladie coronarienne et sa réalisation est contre-indiquée si des symptômes sont présents. Il en va de même pour les autres examens à l'effort non-invasifs comme le test de stress avec perfusion scintigraphique et l'échocardiographie de stress (Bonow RO 2006). L'angiographie coronarienne par tomодensitométrie peut être une alternative raisonnable à la coronarographie invasive dans des cas précis, en particulier pour les patients plus jeunes (Lindman BR 2013).

Dans un RVA par la voie percutanée, de rares cas ( $<1\%$ ) d'obstruction coronarienne peuvent avoir lieu en raison du déplacement d'une cuspide de la valve native sur l'ostium coronaire principale gauche ou sur l'ostium coronaire droit pendant la procédure (Masson JB *et al.*, 2009). Ainsi, la position des ostia des artères coronaires relativement aux cuspides valvulaires aortiques et l'extension et localisation des calcifications valvulaires doivent être évaluées par aortographie et/ou tomодensitométrie (Leipsic J *et al.*, 2011).



### **2.5.3.3 Résonance magnétique et tomodensitométrie**

La résonance magnétique cardiaque (RMC) et la tomodensitométrie peuvent être utiles dans l'évaluation des patients avec SVA quand les données échocardiographiques sont sous-optimales ou en conflit avec le diagnostic clinique (Lindman BR *et al.*, 2013).

La RMC peut faire la différence entre une valve aortique bicuspide ou tricuspide et fournir une mesure précise de la vitesse transvalvulaire aortique maximale. L'examen est aussi très fiable pour l'évaluation de la racine aortique et de l'aorte ascendante, surtout chez les patients avec SVA d'origine bicuspide (Lindman BR *et al.*, 2013).

La tomodensitométrie permet de quantifier l'AVA par planimétrie d'une manière distincte de celle faite par l'échocardiographie et peut donner une mesure quantitative de la calcification valvulaire. Il a été démontré que l'AVA obtenue par tomodensitométrie (planimétrie de la valve) était légèrement plus large que l'AVA obtenue par l'échocardiographie transthoracique (équation de continuité), mais que la précision des deux méthodes était comparable. Toutefois, la précision de l'AVA obtenue par tomodensitométrie peut être affectée par le niveau de calcification valvulaire (une corrélation plus faible entre l'AVA-mesurée et l'AVA-référence a été rencontrée dans le groupe avec des scores de calcification valvulaire plus élevés) (Larsen LH *et al.*, 2014). De plus, l'angiographie coronarienne par tomodensitométrie constitue une bonne alternative à la coronarographie invasive pour certains patients. Finalement, dans la préparation pour un RVA percutané, l'évaluation pré-procédure inclut l'analyse par tomodensitométrie de la taille et du format de l'anneau aortique, de la longueur des feuillets, de la distance entre l'anneau aortique et chaque ostium coronarien et de l'extension et localisation des calcifications valvulaires (Lindman BR *et al.*, 2013; Leipsic J *et al.*, 2011).

#### **2.5.4 Classification de la SVA**

Les nouvelles lignes directrices du Collège Américain de Cardiologie et de l'Association Américaine du Coeur (*American College of Cardiology-ACC and American Heart Association-AHA*) sur les maladies cardiaques valvulaires classifient la SVA en 4 stades (Tableau II): A- risque de SVA; B- SVA progressive (légère à modérée); C- SVA sévère asymptomatique; et D- SVA sévère symptomatique. Chacun de ces stades est défini par l'anatomie de la valve, l'hémodynamie au niveau valvulaire, les conséquences de l'obstruction valvulaire pour le VG et pour les vaisseaux, ainsi que par les symptômes du patient. Les approches médicales et interventionnelles pour le suivi vont ainsi dépendre du diagnostic précis de la cause et du niveau de la maladie (Nishimura RA *et al.*, 2014).

**Tableau II: Classification de la SVA - ACC/AHA 2014**

Stade	Définition	Anatomie-valve	Hémodynamie-valve	Conséquences hémodynamiques	Symptômes
A	Risque de SVA	BiVA (ou autre anomalie valvulaire congénitale)	$V_{\max} < 2 \text{ m/s}$	Aucune	Aucun
		ScIVA			
B	SVA progressive	Niveau de calcification 2-3* + ↓ ouverture des feuillets	<b>SVA légère:</b> $V_{\max} 2,0\text{-}2,9 \text{ m/s}$ ou $\Delta P_{\text{moyen}} < 20 \text{ mmHg}$	Début DDVG	Aucun
		Changements RhuVA avec fusion commissurale	<b>SVA modérée:</b> $V_{\max} 3,0\text{-}3,9 \text{ m/s}$ ou $\Delta P_{\text{moyen}} 20\text{-}39 \text{ mmHg}$	FEVG normale	
C : SVA sévère asymptomatique					
C1	SVA sévère asymptomatique	Niveau de calcification 4* ou sténose congénitale sévère + ↓↓↓ ouverture des feuillets	<b>SVA sévère:</b> $V_{\max} \geq 4 \text{ m/s}$ ou $\Delta P_{\text{moyen}} \geq 40 \text{ mmHg}$ $AVA \leq 1 \text{ cm}^2$ ou $AVA_i \leq 0,6 \text{ cm}^2$  <b>SVA très sévère:</b> $V_{\max} \geq 5 \text{ m/s}$ ou $\Delta P_{\text{moyen}} \geq 60 \text{ mmHg}$	DDVG  HVG légère  FEVG normale	Aucun: ECG d'effort raisonnable pour confirmer le statut symptomatique
C2	SVA sévère asymptomatique avec dysfonction VG			FEVG < 50%	Aucun
D: SVA sévère symptomatique					
D1	SVA sévère symptomatique avec gradient élevé	Niveau de calcification 4* ou sténose congénitale sévère + ↓↓↓ ouverture des feuillets	$V_{\max} \geq 4 \text{ m/s}$ ou $\Delta P_{\text{moyen}} \geq 40 \text{ mmHg}$  $AVA \leq 1 \text{ cm}^2$ ou $AVA_i \leq 0,6 \text{ cm}^2/\text{m}^2$ (peut être plus large si AVA/RA mixte)	DDVG  HVG  HP peut être (+)	Dyspnée d'effort ou ↓ tolérance effort  Angine d'effort  Syncope ou pré-syncope d'effort
D2	SVA sévère symptomatique avec bas débit/bas gradient ( <i>low flow-low gradient</i> ) et ↓FEVG	Niveau de calcification 4* + ↓↓↓ mouvement des feuillets	$V_{\max} < 4 \text{ m/s}$ ou $\Delta P_{\text{moyen}} < 40 \text{ mmHg}$  $AVA \leq 1 \text{ cm}^2$  Échographie de stress (dobutamine): $AVA \leq 1 \text{ cm}^2$ $V_{\max} \geq 4 \text{ m/s}$	DDVG  HVG  FEVG<50%	Insuffisance cardiaque  Angine  Syncope ou pré-syncope
D3	SVA sévère symptomatique avec bas gradient ( <i>low gradient</i> ) et FEVG normale ou SVA sévère symptomatique avec bas débit ( <i>low flow</i> ) paradoxal	Niveau de calcification 4* + ↓↓↓ mouvement des feuillets	$V_{\max} < 4 \text{ m/s}$ ou $\Delta P_{\text{moyen}} < 40 \text{ mmHg}$  $AVA \leq 1 \text{ cm}^2$  $AVA_i \leq 0,6 \text{ cm}^2/\text{m}^2$ et $VES_i < 35 \text{ ml/m}^2$  Mesuré avec TA systolique < 140 mmHg	RWT ↑  Cavité VG petite avec ↓ VES  DDVG sévère (remplissage diastolique restrictif)  FEVG<50%	Insuffisance cardiaque  Angine  Syncope ou pré-syncope

Adapté de Nishimura RA *et al.*, 2014.

\* Classification de Rosenhek R *et al.*, 2000 (Figure 9).

SVA: sténose valvulaire aortique; ACC: *American College of Cardiology* (Collège Américain de Cardiologie), AHA: *American Heart Association* (Association Américaine du Cœur); BiVA: bicuspidie valvulaire aortique; ScIVA: sclérose valvulaire aortique; RhuVA: sténose valvulaire aortique rhumatismale;  $V_{\max}$ : vitesse transvalvulaire aortique maximale;  $\Delta P_{\text{moyen}}$ : gradient transvalvulaire aortique moyen; AVA: aire valvulaire aortique;  $AVA_i$ : aire valvulaire aortique indexée; VG: ventricule gauche; DDVG: dysfonction diastolique du VG; FEVG: fraction d'éjection du VG; ECG: électrocardiographie; HVG: hypertrophie du VG; HP: hypertension pulmonaire; TA: tension artérielle; VES: volume d'éjection systolique;  $VES_i$ : volume d'éjection systolique indexé; RWT: *relative wall thickness* (épaisseur relative de la paroi).

## 2.6 Traitement

Jusqu'à présent, il n'existe pas de traitement médical efficace pour retarder la progression de la SVA. La seule thérapie efficace demeure le soulagement de l'obstruction mécanique causée par la valve sténosée (Crawford MH *et al.*, 2009). La plastie (percutanée par ballon ou chirurgicale) de la valve aortique est recommandée pour des adolescents ou jeunes adultes avec SVA congénitale sévère non-calcifiée (notamment bicuspidies). Toutefois, la valve reste anatomiquement anormale, et le développement de resténose ou de régurgitation dans les 10-20 années suivantes et la nécessité d'un RVA sont fréquents. Pour les adultes avec SVA calcifiée, les résultats hémodynamiques de la plastie percutanée par ballon sont modestes et elle demeure ainsi réservée comme une solution transitoire servant de pont pour la RVA chez les patients instables (Bonow RO *et al.*, 2012). Le RVA (chirurgical ou par la voie percutanée) est l'alternative thérapeutique de choix pour les adultes avec SVA calcifiée (Beckmann E *et al.*, 2010; Lindman BR *et al.*, 2013; Nishimura RA *et al.*, 2014).

Le RVA est indiqué chez les patients avec une SVA symptomatique et permet une augmentation de la survie et une amélioration de la qualité de vie des patients ainsi qu'une amélioration significative des symptômes. Chez les patients SVA avec dysfonction systolique du VG, le RVA permet également l'amélioration de la capacité contractile cardiaque et même la normalisation de la fraction d'éjection du VG dans certains cas (Nishimura RA *et al.*, 2014; Bakaeen FG *et al.*, 2010; Connolly HM *et al.*, 2000; Kvidal P *et al.*, 2000; Otto CM, 2012; Pellikka PA *et al.*, 2005; Pereira JJ *et al.*, 2002; Vahanian A *et al.*, 2007).

Traditionnellement, le RVA est réalisé par voie chirurgicale, mais une autre approche moins invasive de RVA par voie percutanée (*transcatheter aortic valve replacement – TAVR*) a été développée dans la dernière décennie. Elle a été réservée premièrement pour des patients de plus haut risque chirurgical avec des comorbidités sévères (Nishimura RA *et al.*, 2014; Carabello BA, 2013; Lindman BR *et al.*, 2013; Otto CM, 2012). Toutefois, des études plus récentes laissent entrevoir que son utilisation serait aussi acceptable pour des patients avec risque chirurgicale plus bas (Piazza N *et al.*, 2013; Adams DH *et al.*, 2014).

Compte tenu de l'absence d'une thérapie médicale capable de retarder la progression de la SVA, l'utilisation de médicaments dans le contexte de cette maladie est actuellement dédiée

au contrôle et à la prévention d'autres conditions pathologiques habituellement associées à la SVA (Lindman BR *et al.*, 2013; Otto CM, 2012).

### **2.6.1 RVA par voie chirurgicale**

Le RVA par voie chirurgicale a profondément transformé les perspectives pour les patients atteints de SVA et est devenu la deuxième indication la plus fréquente de chirurgie cardiaque (Heistad DD *et al.*, 2013; Roberts WC & Ko JM, 2005). La valve aortique native sténosée peut être substituée soit par une prothèse mécanique, soit par une bioprothèse; cette dernière étant recommandée pour les patients > 65 ans (Nishimura RA *et al.*, 2014).

La mortalité associée au RVA a diminué drastiquement dans les deux dernières décennies. La mortalité à 30 jours après la chirurgie est couramment <3% pour un RVA isolé et <4,5% pour un RVA combiné à une revascularisation coronarienne (Brown JM *et al.*, 2009; Lee R *et al.*, 2011). Toutefois, le RVA présente un risque opératoire qui dépend autant des facteurs de risque du patient que de l'expérience de l'équipe chirurgicale. Les comorbidités associées à une augmentation du risque de mortalité à 30 jours incluent l'âge, une dysfonction du VG, une maladie coronarienne concomitante, une chirurgie de revascularisation coronarienne antérieure, une insuffisance rénale et une maladie pulmonaire chronique. Plusieurs scores de risque peuvent estimer ce risque de mortalité post-chirurgical, dont l'EuroSCORE (*European System for Cardiac Operative Risk Evaluation*), le calculateur de risque de la Société Américaine des Chirurges Thoraciques (*Society of Thoracic Surgeons – STS*) et le calculateur de risque d'Ambler qui est spécifiquement développé pour les valvulopathies. À partir des scores obtenus, certains patients peuvent être considérés comme ayant un risque haut voire prohibitif pour la réalisation d'un RVA par voie chirurgicale (Nashef SA *et al.* 1999; Online STS; Ambler G *et al.*, 2005). Les indications de RVA chirurgical chez les patients asymptomatiques avec SVA sévère sont moins clairs et font l'objet de débats dans la littérature scientifique et parmi les spécialistes (Carabello BA, 2012; Vaishnava P *et al.*, 2011).

## 2.6.2 RVA par voie percutanée

Il y a quelques années, la seule option moins invasive au RVA chirurgical pour des patients considérés à haut risque chirurgical était la valvuloplastie par ballon réalisée par voie percutanée. Cette dernière est une procédure bien établie et bien étudiée, qui a toutefois des taux de complications significatifs, une haute probabilité de récurrence de la sténose et une probabilité modérée de développer une régurgitation de la valve aortique (Balmer C *et al.*, 2004).

Développé il y a près de 10 ans, le RVA par voie percutanée (*transcatheter aortic valve replacement – TAVR*) a déjà été réalisé auprès de plus de 40 000 patients dans le monde entier. Le TAVR représente actuellement une alternative non-inférieure au RVA chirurgical pour les patients avec de nombreuses comorbidités et considérés comme ayant un risque chirurgical élevé ou prohibitif (Leon MB *et al.*, 2010; Smith CR *et al.*, 2011; Holmes DR, Jr. *et al.*, 2012; Webb J *et al.*, 2012; Nishimura R *et al.*, 2014). Toutefois, des études plus récentes laissent entrevoir que le TAVR pourrait être même supérieur au RVA chirurgical chez les patients avec risque chirurgical élevé (Adams DH *et al.*, 2014) et que son utilisation pourrait être aussi acceptable pour des patients avec risque chirurgical plus bas (Piazza N *et al.*, 2013).

L'importante étude prospective et randomisée PARTNER (*Placement of Transcatheter Aortic Valves*) a évalué pour la première fois l'impact du TAVR *versus* une thérapie conservatrice (en incluant la valvuloplastie par ballon) chez des patients SVA à risque chirurgical prohibitif - PARTNER B (Leon MB *et al.*, 2010) et l'impact du TAVR *versus* RVA chirurgical chez des patients RVA à haut risque chirurgical - PARTNER A (Smith CR *et al.*, 2011). Cette étude rapporte une augmentation de la survie des patients ayant un risque prohibitif et a eu des résultats non-inférieurs à la chirurgie pour des patients à haut risque encore opérables (Leon MB *et al.*, 2010; Smith CR *et al.*, 2011).

Les résultats de l'étude PARTNER ont amené à l'approbation par Santé Canada du TAVR avec la valve prosthétique utilisée par l'étude (Edward Sapien valve - Edwards Lifesciences; valve expansible par ballon) pour des patients avec SVA à haut risque chirurgical en juin 2011 (Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health, 2013). La Société Canadienne de Cardiologie (SCC) a également énoncé une position sur le TAVR en avril 2012 où la procédure était recommandée chez les patients SVA avec risque chirurgical élevé ou prohibitif. Toutefois, le TAVR pourrait être offert pour des patients SVA sélectionnés dont le

risque chirurgical serait autrement léger ou modéré si l'Équipe du Coeur (*Heart Team* - équipe multidisciplinaire responsable pour l'évaluation du patient concernant la décision entre TAVR et RVA chirurgical) considère qu'il y a un risque considérable de morbidité ou morbidité en raison de circonstances spéciales (fragilité, âge très avancé, pontages antérieurs, maladies plurivalvulaires, etc.) (Webb J *et al.*, 2012).

L'autre valve prosthétique disponible pour TAVR (CoreValve-Medtronic; valve auto-extensible) a été approuvée par Santé Canada en août 2012 sous la condition que son fabricant puisse fournir des preuves de sécurité et efficacité, autant à partir des études cliniques que de l'historique de commercialisation, dans les 5 ans suivants l'approbation (Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health, 2013). D'importantes données furent générées par l'étude U.S. CoreValve (Adams DH *et al.*, 2014). Cet essai clinique multicentrique randomisé de non-infériorité comparait le TAVR avec la CoreValve *versus* le RVA chirurgical chez des patients avec SVA sévère considérés à haut risque chirurgical. L'essai a été le premier à démontrer non pas une non-infériorité mais bien une supériorité du TAVR en regard de la mortalité, avec une réduction absolue de 5% à 1 an en comparaison avec le RVA (Adams DH *et al.*, 2014).

Une évaluation superficielle des résultats de l'étude U.S. CoreValve pourrait faire penser que la CoreValve est plus efficace que la valve Edward Sapien, mais une certaine prudence est de mise lorsque l'on compare deux essais où des voies d'accès différentes furent utilisées et pour lesquels les caractéristiques de base des patients divergeaient (Pighi *et al.*, 2014). En effet, l'étude CHOICE visait à comparer les deux dispositifs dans une population de patients avec SVA sévère à haut risque chirurgical soumis à TAVR. Les deux prothèses valvulaires n'ont pas présenté de différences significatives concernant le décès, l'amélioration des symptômes ou l'incidence d'accident vasculaire cérébral (ACV) dans les 30 jours (Abdel-Wahab M *et al.*, 2014)

Finalement, l'étude SURTAVI (*Surgical Replacement and Transcatheter Aortic Valve Implantation*) a comparé la mortalité pour toutes causes à 30 jours et à 1 an entre le TAVR et le RVA chirurgical chez un groupe de patients avec SVA sévère symptomatique mais risque chirurgical modéré. La mortalité cumulative pour toutes causes autant à 30 jours qu'à un an a été similaire pour les deux procédures, suggérant ainsi que le TAVR pourrait également être acceptable pour des patients SVA avec un risque chirurgical plus bas (Piazza N *et al.*, 2013).

La décision finale pour déterminer si un patient bénéficiera d'un RVA chirurgical ou percutané doit ainsi être prise par une équipe multidisciplinaire (l'Équipe du Cœur ou *Heart Team*) en incluant des chirurgiens cardiaques, des cardiologues interventionnels et des cardiologues cliniciens et, de manière optimale, d'autres consultants comme un anesthésiste ou un gériatologue (Vahanian A *et al.*, 2008; Webb J *et al.*, 2012; Nishimura R *et al.*, 2014).

### **2.6.3 Thérapie médicale**

#### **2.6.3.1 La recherche d'une thérapie médicale pour la SVA**

À l'heure actuelle, il n'existe pas encore de traitement médical capable de prévenir ou de retarder la progression de la SVA. Les travaux de recherche effectués jusqu'à présent pour trouver un tel traitement se sont révélés négatifs ou contradictoires.

Compte tenu des nombreuses similarités entre la SVA et l'athérosclérose en termes de facteurs cliniques associés, de changements histopathologiques, d'implications importantes d'une composante lipidique et de pronostics cliniques, l'hypothèse d'une thérapie médicamenteuse commune s'avérait séduisante. Il a ainsi été envisagé que des médicaments destinés à diminuer le taux de cholestérol et utilisés pour le traitement de l'athérosclérose, tels que les statines, puissent diminuer ou prévenir la progression de la SVA (Lindman BR *et al.*, 2013; Otto CM, 2008; Otto CM, 2012). Ce concept a reçu le support d'études expérimentales qui ont démontré dans un modèle d'hypercholestérolémie chez le lapin que la prolifération cellulaire et la production de matrice osseuse induites par l'hypercholestérolémie chez la valve aortique étaient inhibées par l'administration d'atorvastatine (Rajamannan NM *et al.*, 2002). Également, des analyses rétrospectives ont observé une diminution significative de la progression de la SVA chez les patients traités par des statines (Aronow WS *et al.*, 2001; Bellamy MF *et al.*, 2002; Novaro GM *et al.*, 2001; Rosenhek R *et al.*, 2004b). Toutefois, sur 4 essais cliniques randomisés et prospectifs réalisés pour évaluer l'impact d'un traitement par les statines chez les patients SVA, un seul a démontré une diminution du taux de progression de la SVA avec l'utilisation de rosuvastatine (Moura LM *et al.*, 2007). Les autres études, qui ont évalué respectivement l'atorvastatine (Cowell SJ *et al.*, 2005), la simvastatine + ezetimibe (le plus grand essai avec 1873 participants) (Rossebø AB *et al.*, 2008), et la rosuvastatine (Chan



KL *et al.*, 2010), n'ont pas trouvé de différences significatives entre l'utilisation de statines *versus* le placebo quant à la progression de la SVA ou aux événements liés à la SVA.

Une autre piste thérapeutique explorée pour diminuer ou prévenir la progression de la SVA est l'inhibition du système rénine-angiotensine par les inhibiteurs de l'ECA (IECA) ou les bloqueurs des récepteurs de l'angiotensine II (BRA). Dans un modèle de lapin hypercholestérolémique, l'administration d'olmesartan inhibe la formation de lésion au niveau de la valve aortique, spécifiquement en prévenant l'accumulation des macrophages, des myofibroblastes et des ostéoblastes, en diminuant les expressions d'ostéopontine et d'ECA et en préservant l'intégrité de l'endothélium valvulaire (Arishiro K *et al.*, 2007). Des travaux ont montré que dans les valves aortiques humaines calcifiées l'ECA et l'angiotensine II sont surexprimées (Helske S *et al.*, 2004; O'Brien KD *et al.*, 2002). De plus, une étude rétrospective rapporte que l'utilisation d'IECA est associée à une plus faible accumulation de calcium dans la valve aortique, mesurée par tomodensitométrie (O'Brien KD *et al.*, 2005). Des études rétrospectives ont alors évalué le rôle de l'utilisation des IECA et des BRA dans la progression de la SVA. Néanmoins, si certaines études ont pu montrer une diminution de la progression de la SVA (Côté N *et al.*, 2010; Wakabayashi K *et al.*, 2011; Yamamoto K *et al.*, 2010), d'autres n'ont en revanche observé aucun effet sur cette progression (Rosenhek R *et al.*, 2004b). Des essais cliniques randomisés sont encore nécessaires pour vérifier l'efficacité de l'inhibition du système rénine-angiotensine sur la prévention de la progression de la SVA (Lindman BR *et al.*, 2013).

Enfin, plusieurs travaux de recherche évaluent l'hypothèse d'une thérapie basée sur l'effet des lipoprotéines de haute densité (*high-density lipoprotein – HDL*) sur la régression de la SVA. Dans ce contexte, Lommi *et al.* ont rapporté que la concentration valvulaire de HDL est diminuée chez les patients avec SVA (Lommi JI *et al.*, 2011). Également, à partir de culture *in vitro* de myofibroblastes, ils ont montré que les HDL induisent la sécrétion d'ostéoprotégérine et diminuent l'expression de TNF- $\alpha$  (Lommi JI *et al.*, 2011). Comme l'ostéoprotégérine et le TNF- $\alpha$  sont connus pour, respectivement, inhiber et stimuler la calcification valvulaire, les auteurs suggèrent que les HDL pourraient avoir un effet anti-calcifiant dans les valves

humaines. Les résultats expérimentaux obtenus par notre groupe sur des modèles animaux renforcent ce concept. Dans les travaux publiés par Busseuil *et al.*, notre groupe a rapporté une augmentation de l'AVA couplée à une diminution de l'épaisseur et de la calcification des valves aortiques sténotiques suite à l'infusion d'un peptide mimétique de l'apolipoprotéine A-I (apoA-I; protéine constituante majeure des HDL) dans un modèle de lapin (Busseuil D *et al.*, 2008). Plus récemment, à partir de 2 modèles de souris avec SVA, l'un centré sur la calcification de la valve (souris déficiente en apolipoprotéine E – apoE<sup>-/-</sup>) et l'autre sur la fibrose (souris avec délétion du gène progeria de Werner - Wm<sup>Δhel/Δhel</sup>), notre groupe a également observé une augmentation de l'AVA suite à l'infusion de ce même mimétique de l'apoA-I, associée à une diminution de l'épaisseur de la paroi de la racine aortique (Trapeaux J *et al.*, 2013). De plus, un modèle numérique en 3D de valve aortique de la souris a confirmé que cette diminution d'épaisseur de la racine aortique est associée avec l'augmentation de l'AVA (Trapeaux J *et al.*, 2013). Cette étude laisse entrevoir l'amélioration de l'élasticité de la racine aortique comme un mécanisme à travers lequel les HDL contribueraient à la diminution de la progression de la SVA.

Jusqu'à présent, les effets d'une infusion de HDL sur la progression de la SVA n'ont fait l'objet d'aucun essai clinique prospectif publié. L'hypothèse d'une thérapie basée sur les HDL en tant qu'alternative médicamenteuse pour la prise en charge de la SVA reste une voie intéressante à explorer.

### **2.6.3.2 Thérapie médicale des comorbidités associées à la SVA**

Compte tenu de l'absence d'une thérapie médicale capable de prévenir ou diminuer la progression de la SVA, l'utilisation de médicaments dans le contexte de cette maladie est actuellement dédiée au contrôle et à la prévention des comorbidités habituellement associées à la SVA et constitue un aspect important du suivi clinique pour la prévention de complications et l'amélioration de la qualité de vie des patients avec SVA (Lindman BR *et al.*, 2013; Otto CM, 2013).

#### **2.6.3.2.1 Hypertrophie du ventricule gauche**

Dans le contexte de la SVA, l'hypertrophie du VG fait suite à une surcharge de pression chronique exercée sur le VG (Kupari M *et al.*, 2005). Des études ont montré que lors d'une

surcharge de pression et d'une insuffisance cardiaque, le système rénine-angiotensine est sur-régulé et que l'inhibition de ce système peut atténuer voire inverser le remodelage hypertrophique et la dysfonction ventriculaire (Litwin SE *et al.*, 1995).

Il a ainsi été évalué si les traitements inhibiteurs du système rénine-angiotensine (IECA, BRA) pouvaient avoir un effet bénéfique sur le remodelage hypertrophique du VG chez les patients avec SVA. De petites études cliniques ont rapporté que les IECA/ BRA sont tolérés par les patients avec SVA et qu'ils exercent une influence favorable sur les symptômes et la capacité fonctionnelle des patients symptomatiques en attente de chirurgie (Chockalingam A *et al.*, 2004). Une autre étude rétrospective a observé une association entre l'utilisation d'IECA/ BRA et une meilleure survie avec diminution d'événements cardiovasculaires (Nadir MA *et al.*, 2011). Malgré la nécessité d'essais cliniques prospectifs et randomisés pour valider l'hypothèse d'une amélioration du remodelage hypertrophique concentrique du VG par l'inhibition du système rénine-angiotensine, les études réalisées laissent déjà entrevoir un effet bénéfique de l'utilisation des IECA/BRA dans ce contexte (Lindman BR *et al.*, 2013).

#### **2.6.3.2.2 Hypertension**

Approximativement 40% des patients avec SVA présentent une hypertension concomitante (Otto CM *et al.*, 1997; Rosenhek R *et al.*, 2004a). Les patients avec SVA constituent une population à plus grand risque cardiovasculaire (Otto CM *et al.*, 1999; Rosenhek R *et al.*, 2004a) et l'hypertension est un facteur de risque important qui nécessite un contrôle adéquat. En plus, la présence d'hypertension accentue le stress exercé sur la paroi ventriculaire et contribue ainsi au remodelage hypertrophique du VG et à sa dysfonction (Briand M *et al.*, 2005; Cramariuc D *et al.*, 2009). Aucune étude prospective n'a évalué les effets d'un agent anti-hypertenseur spécialement chez les patients avec SVA, mais étant donné leur effet bénéfique potentiel sur le remodelage hypertrophique du VG, les IECA/ BRA peuvent être envisagés préférentiellement (Lindman BR *et al.*, 2013).

#### **2.6.3.2.3 Fibrillation auriculaire**

Les patients avec SVA peuvent développer de la fibrillation auriculaire (FA), surtout si le remodelage ventriculaire est rapide car la contribution de l'oreillette gauche pour le remplissage diastolique du VG est d'autant plus importante que le VG est petit, hypertrophié

et avec une dysfonction diastolique concomitante. Le contrôle du rythme et de la fréquence cardiaque en accord avec les indications cliniques est donc fondamental dans cette situation, ainsi que l'utilisation d'une anticoagulation adéquate (Lindman BR *et al.*, 2013).

#### **2.6.3.2.4 Maladie coronarienne**

La maladie coronarienne concomitante est commune chez les patients avec SVA, avec une occurrence estimée à  $\approx 50\%$  des individus ayant une SVA sévère (ACC/AHA Task Force on Practice G *et al.*, 2006). Dans ce cas, les mesures de prévention primaire et secondaire pour la prise en charge de la maladie coronarienne doivent être suivies, incluant l'utilisation d'aspirine, des statines, des  $\beta$ -bloquants, des IECA et des antagonistes de l'aldostérone (Lindman BR *et al.*, 2013).

#### **2.6.3.2.5 Insuffisance cardiaque**

Les patients avec SVA sévère qui développent une insuffisance cardiaque doivent être soumis à un RVA dès que possible. Toutefois, l'utilisation de médicaments habituellement indiqués pour le traitement clinique de l'insuffisance cardiaque, particulièrement les diurétiques, peut aider à diminuer la congestion et soulager les symptômes dans la période pré-opératoire. Quelques patients bénéficient de l'utilisation de vasodilatateurs, lesquels peuvent contribuer à la diminution de la postcharge du VG et en conséquence causer une augmentation du débit cardiaque par la diminution de la résistance vasculaire systémique. Cependant, il faut utiliser les vasodilatateurs avec prudence et effectuer un suivi fréquent des patients. Une diminution subite ou rapide de la résistance vasculaire systémique pourrait mener à une augmentation considérable du gradient à travers la valve sténosée, une diminution du débit cardiaque et une détérioration symptomatique (Nishimura RA *et al.*, 2014).

Les patients développant une insuffisance cardiaque pour dysfonction primaire du VG mais qui présentent une SVA légère à modérée sont traités par les médicaments standards de l'insuffisance cardiaque, incluant des  $\beta$ -bloquants, des IECA/BRA, des antagonistes de l'aldostérone, des nitrates/hydralazine et des diurétiques, selon les indications cliniques (Lindman BR *et al.*, 2013).

### **3. Progression de la SVA**

Les stades précoces de la SVA sont habituellement asymptomatiques pendant longtemps et les symptômes apparaissent seulement lorsque que la pathologie est modérée à sévère (Rajamannan NM *et al.*, 2007). Ainsi, le suivi de la progression de la SVA se fait surtout par échocardiographies sériées (Baumgartner H *et al.*, 2009) dont la fréquence de réalisation reste encore aujourd'hui à la discrétion du médecin traitant. Sans autres éléments d'information, ce suivi peut être souvent inadéquat et conduire à une prise de décision tardive d'effectuer un RVA; la SVA étant alors à un stade déjà trop avancé.

Dans l'objectif d'optimiser et de personnaliser la prise en charge et le suivi de la SVA, des chercheurs ont essayé de caractériser sa progression hémodynamique dans la phase asymptomatique afin de prédire le pronostic, d'identifier des prédicteurs de progression rapide et de mieux comprendre la relation entre la sévérité hémodynamique et l'établissement des symptômes (Otto CM *et al.*, 2010). D'autres chercheurs ont évalué l'association de biomarqueurs sériques avec la présence de la maladie, en analysant aussi leur capacité de prédire sa sévérité, sa progression et son pronostic (Beckman E *et al.*, 2010). Plusieurs chercheurs se sont également intéressés à la vérification de possibles déterminants génétiques de la SVA (Bossé Y *et al.*, 2008). Toutefois, peu de travaux ont été dédiés à l'évaluation de la relation entre la génétique *versus* la progression de la maladie (Moura LM *et al.*, 2012). Les prochaines sections de ce manuscrit sont dédiées à la revue des données principales déjà publiées concernant la progression hémodynamique de la SVA dans le temps et la relation entre biomarqueurs sériques et présence/progression de la SVA.

#### **3.1 Progression hémodynamique de la SVA**

Les premières données sur la progression hémodynamique de la SVA dans le temps sont issues d'études avec des patients soumis à 2 ou plus cathétérismes cardiaques. Toutefois, ces travaux étaient petits et avaient clairement un biais de sélection: la première indication de la procédure diagnostique invasive se faisait déjà pour des patients dans un stade plus avancé de la maladie et seulement ceux qui n'étaient pas décédés ou soumis à un RVA après le premier examen pouvaient subir un deuxième examen ou plus. Même avec ce biais, ces travaux ont démontré des taux variables de progression de la SVA (Otto CM *et al.*, 2010).

La disponibilité de l'échocardiographie, examen non-invasif qui peut évaluer d'une manière fiable la progression hémodynamique de la SVA et peut être répété plus facilement, a permis la réalisation d'études plus larges et détaillées sur ce sujet (Otto CM *et al.*, 1989; Faggiano P *et al.*, 1992; Brenner SJ *et al.*, 1995; Bahler RC *et al.*, 1999; Palta S *et al.*, 2000; Novaro GM *et al.*, 2001; Aronow WS *et al.*, 2001; Rosenhek R *et al.*, 2000; Rosenhek R *et al.*, 2004). On n'a pas seulement essayé d'établir le taux d'évolution de la SVA dans le temps, mais aussi d'analyser des possibles prédicteurs de cette progression. Plus récemment, des essais cliniques randomisés ont été réalisés pour vérifier la capacité des statines à diminuer la progression échocardiographique de la SVA dans le temps, ce qui a aussi contribué à l'augmentation des données dans ce domaine (Cowell SJ *et al.*, 2005; Moura LM *et al.*, 2007; Rossebo AB *et al.*, 2008; Chan KL *et al.*, 2010).

Dans ces études, la progression de la SVA est déterminée à partir de la variation dans le temps des valeurs des paramètres échocardiographiques les plus importants pour le diagnostic et le suivi de la SVA, à savoir: vitesse transvalvulaire aortique maximale, gradient transvalvulaire aortique moyen et AVA (Baumgartner H *et al.*, 2009). Habituellement, on fait la différence des valeurs mentionnées entre l'échocardiographie la plus récente et celle du début du suivi, en normalisant cette différence par l'intervalle en années entre les 2 examens (taux de progression par année) (Palta S *et al.*, 2000; Bellamy MF *et al.*, 2002; Cowell SJ *et al.*, 2005; Otto CM *et al.*, 1989; Roger VL *et al.*, 1990; Faggiano P *et al.*, 1992; Peter M *et al.*, 1993; Otto CM *et al.*, 1997; Brenner SJ *et al.*, 1995; Rosenhek R *et al.*, 2000; Rosenhek R *et al.*, 2004; Novaro GM *et al.*, 2001; Rosenhek R *et al.*, 2004 (b), Moura LM *et al.*, 2007), bien que certains travaux aient utilisé la différence simple et mis le temps comme une variable de l'analyse multivariée (Brenner SJ *et al.*, 1995).

En moyenne, ces études ont trouvé une augmentation de 0,2-0,4 mètres par seconde par année (m/s/a) pour la vitesse transvalvulaire aortique maximale; une augmentation de 8 mmHg par année (mmHg/a) pour le gradient transvalvulaire aortique moyen et une diminution de 0,15 cm<sup>2</sup> par année (cm<sup>2</sup>/a) pour l'AVA. Cependant, une importante variation individuelle des valeurs entre les études a été observée (Otto CM, 2010). Les travaux ont également démontré plusieurs caractéristiques cliniques ou paramètres échocardiographiques comme étant associés à la progression de la SVA, parfois avec des conclusions discordantes (Tableau III). On remarque finalement que la plus grande partie des études a analysé ensemble des SVA de

différentes étiologies (SVA dégénérative sur valve tricuspide, sur valve bicuspidale et d'origine rhumatismale), même si les différences dans leur physiopathologie déterminent probablement des taux de progression distinctes (Goldberg SH *et al.*, 2007); et que l'on retrouve rarement une description de l'ethnie des populations évaluées, bien que des différences ethniques puissent avoir un effet sur l'évolution de la SVA (Yamamoto K *et al.*, 2010; Novaro GM *et al.*, 2007).

Voici quelques caractéristiques cliniques ou paramètres échocardiographiques déjà démontrés par différentes études comme étant associés à la progression de la SVA (Tableau III):

**Tableau III: Caractéristiques cliniques ou paramètres échocardiographiques associés à la progression de la SVA - Références**

<b>Caractéristique clinique ou paramètre échocardiographique</b>	<b>Augmentation progression SVA</b>	<b>Pas d'effet progression SVA</b>	<b>Diminution progression SVA</b>
Âge	Peter M 1993, Rosenhek R 2004(a), Novaro GM 2001	Faggiano P 1992, Brener SJ 1995	
Sexe	Bahler RC 1999 (♂), Yamamoto K 2010 (♀)	Faggiano P 1992	
Diabète	Aronow WS 2001, Kamalesh M 2009		
Tabac	Palta S 2000		
Maladie coronarienne athérosclérotique	Peter M 1993, Rosenhek R 2004(a)		
Syndrome métabolique	Capoulade R 2012		
Insuffisance rénale	Bahler RC 1999		
↑ Cholestérol	Palta S 2000	Bellamy MF2002, Cowell SJ 2005, Rossebo AB 2008, Chan KL 2010	
↑ Créatinine	Palta S 2000		
↓ Hémoglobine	Yamamoto K 2010 (SVA sévère)		
Utilisation de statines		Cowell SJ 2005, Rossebo AB 2008, Chan KL 2010	Novaro GM 2001, Rosenhek R 2004(b), Moura LM 2007
Utilisation de Warfarine	Yamamoto K 2010 (SVA légère)		
Utilisation d'IECA		Rosenhek R 2004(b)	Wakabayashi K 2011
Utilisation de BRA			Yamamoto K 2010 (SVA légère)
Développement de symptômes	Otto CM 1989, Roger VL1990		
↓ Fraction d'éjection VG	Faggiano P 1992	Wakabayashi K 2011	
Régurgitation mitrale	Brener SJ 1995		
Hypertrophie VG	Brener SJ 1995		
Niveau basal de calcification valvulaire	Bahler RC 1999, Palta S 2000, Rosenhek R 2000		
Vitesse transvalvulaire aortique basale	Brener SJ 1995, Rosenhek R2000, Rosenhek R 2004(a)		Wakabayashi K 2011
Gradient transvalvulaire aortique basal	Brener SJ 1995		
Aire valvulaire aortique basale	Brener SJ 1995, Bellamy MF 2002		

BRA: bloqueurs des récepteurs de l'angiotensine II; IECA: inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine; SVA: sténose valvulaire aortique; VG: ventricule gauche.



### 3.2 Biomarqueurs sériques *versus* la présence et la progression de la SVA

Plusieurs biomarqueurs sériques ont déjà été associés à la présence de la SVA, chacun lié à des composantes inflammatoires, lipidiques ou phosphocalciques de la pathogénèse de la SVA. Ces biomarqueurs sont résumés dans le Tableau IV.

**Tableau IV: Biomarqueurs sériques associés à la présence de SVA - Références**

Biomarqueur	Définition/fonction
Dyméthylarginine asymétrique: ADMA (Ngo DT 2007)	Inhibiteur de l'oxyde nitrique
Homocystéine (Novaro GM 2004)	Associé à la dysfonction endothéliale
Tissu plasminogen activator: tPA (Glader CA 2003)	Conversion du plasminogen en plasmine
Lipoprotéine (a): Lp(a) (Glader CA 2003, Arsenault BJ 2014)	Particule « LDL-like » + apolipoprotéine (a).
Leptine (Glader CA 2003)	Hormone de l'homéostasie de l'énergie, produite par les adipocytes
Protéine C réactive – CRP (Galante A 2001, Imai K 2008)	Protéine de phase aiguë de l'inflammation
Fétuine-A (Ix JH 2007)	Glycoprotéine hépatique inhibitrice de la calcification <i>in vitro</i>
Produit calcium-phosphore (Mills WR 2004)	Produit calcium sérique x phosphore sérique
Ostéopontine: OPN (Yu PJ 2009)	Régulation du remodelage des os
Gamma-glutamyl transférase: GGT (Bozbas H 2008)	Enzyme hépatique contrant le stress oxydant
Peptide natriurétique: BNP (Qi W 2001, Weber M 2004)	Libéré par les parois myocardiques lors de surcharge de pression et de volume
Protéine Gla de la matrice (Ueland T 2010)	Protéine de liaison avec le calcium, inhibiteur de la calcification
Paraoxonase 1: PON 1 (Moura M 2012)	Enzyme avec action anti-athérogénique par la réduction de la peroxydation des lipides

Cependant, parmi tous les biomarqueurs sériques cités ci-dessus, seuls la CRP (avec résultats contradictoires: présente (Imai K *et al.*, 2008) et absente (Novaro GM *et al.*, 2007)), le BNP (Weber M *et al.*, 2005, Gerber IL *et al.*, 2005), la protéine Gla de la matrice (Capoulade R *et al.*, 2012a; Capoulade R *et al.*, 2012b) et la PON 1 (Moura LM *et al.*, 2012) ont été déjà évalués quant-à leur association avec la progression de la SVA. Concernant la

PON 1, les mêmes chercheurs ont rencontré une association entre les polymorphismes du gène PON 1 192 et la progression de la SVA (voir section 2.2.5.2), ce qui, à notre connaissance, est la seule étude publiée jusqu'à présent ayant essayé d'évaluer la relation entre la génétique et la progression de la SVA.

La relation des niveaux sériques de cholestérol avec la SVA a été analysée par plusieurs travaux mais leur rôle est encore incertain: des études ont rapporté une association significative avec la présence et la progression de la SVA (Messika-Zeitoun D *et al.*, 2007; Aronow WS *et al.*, 2001; Palta S *et al.*, 2000; Nassimiha D *et al.*, 2007) et d'autres non (Bellamy MF *et al.*, 2002; Cowell SJ *et al.*, 2005; Rossebo AB *et al.*, 2008; Chan KL *et al.*, 2010).

Récemment, des études ont démontré une diminution du risque de progression de la SVA parmi les participants qui utilisaient des IECA ou des BRA (Yamamoto K *et al.*, 2010, Wakabayashi *et al.*, 2011), laissant entrevoir l'angiotensine II comme un biomarqueur potentiel intéressant de la présence et progression de la SVA. Aussi, des travaux ont conclu que la troponine T de haute sensibilité (HS) est un prédicteur de mortalité et est corrélée avec des données échocardiographiques de structure et fonction cardiaques chez des patients avec SVA, laissant supposer que ce composé pourrait être un possible prédicteur de la présence et la progression de la maladie (Rosjo H *et al.*, 2011). Finalement, peu d'études ont évalué l'association du diabète avec la progression de la SVA (Aronow WS *et al.*, 2001, Kamalesh M *et al.*, 2009) et une récente étude a trouvé une association entre la progression de la SVA et le syndrome métabolique (Capoulade R *et al.*, 2012a). Nous pouvons donc conclure qu'il est nécessaire d'étudier la relation des mesures associées au diabète (dont l'hémoglobine glyquée) avec la présence et ensuite la progression de la SVA.

L'utilisation clinique de biomarqueurs pour prédire la progression de la SVA n'est donc pas validée à ce jour. Comme on a pu le constater ci-dessus, les données sur le sujet sont encore rares dans la littérature scientifique (Beckman E *et al.*, 2010). L'emploi de biomarqueurs et des programmes de « *screening* » pour accéder au risque d'évolution future a aidé à améliorer le pronostic de plusieurs pathologies. Par exemple, les patients à risque de développer des maladies coronariennes sont évalués actuellement avec une combinaison de données cliniques et biochimiques pour déterminer les caractéristiques du traitement et faire leur suivi. La même approche pourrait être utilisée pour la SVA dégénérative calcifiée

(Beckman E *et al.*, 2010). Cette sous-étude pourra contribuer à l'amélioration des connaissances dans un domaine peu exploré par la littérature jusqu'à maintenant, soit l'analyse de biomarqueurs quant-à leur capacité de prédire la progression de la SVA.

#### **4. La Biobanque de la Cohorte Génétique Hospitalière de l'Institut de Cardiologie de Montréal et l'étude principale « Aspects génétique et moléculaire de la sténose valvulaire aortique »**

Le groupe de patients évalué par la présente sous-étude a été sélectionné parmi les sujets de l'étude principale « Aspects génétiques et moléculaires de la sténose valvulaire aortique ». Celle-ci, à son tour, a été réalisée avec des participants de la Biobanque de la Cohorte Génétique Hospitalière de l'Institut de Cardiologie de Montréal (ICM). Dans les prochaines sections suit une brève description de ces 2 grands projets qui ont permis la conception et l'exécution de cette sous-étude.

##### **4.1 La Biobanque de la Cohorte Génétique Hospitalière de l'Institut de Cardiologie de Montréal**

La Biobanque de la Cohorte Génétique Hospitalière de l'ICM a été créée avec la mission de rassembler 30 000 participants afin de permettre aux chercheurs de l'Institut, présents et futurs, de déterminer les bases génétiques et autres facteurs de risque des maladies cardiovasculaires et pathologies associées.

Elle est constituée d'une vaste base de données spécifiques (médicales, généalogiques, psychologiques, biologiques et génétiques) et des échantillons sanguins (ADN, plasma, globules blancs et rouges) recueillis auprès des personnes qui ont utilisé les services de l'hôpital et qui ont accepté, sur une base volontaire, de participer à cette Biobanque par la signature d'un formulaire de consentement éclairé.

Tous les chercheurs de l'Institut peuvent avoir accès à ce matériel moyennant examen et acceptation de chacun de leurs projets par le comité de gestion de la cohorte et l'approbation par les comités scientifiques et d'éthique de l'ICM (Politique de gestion de la Biobanque 2010).

## 4.2 L'étude principale « Aspects génétiques et moléculaires de la sténose valvulaire aortique »

Le projet principal « Aspects génétiques et moléculaires de la sténose valvulaire aortique » réuni 405 patients avec SVA sur valve tricuspide (cas) et 415 patients sans SVA (témoins) appariés aux cas par des caractéristiques cliniques spécifiques (âge, sexe, tabagisme, maladie cardiaque athérosclérotique (MCAS), dyslipidémie, utilisation de statines) sélectionnés à partir de la Biobanque de la Cohorte Génétique Hospitalière de l'ICM.

Ce projet avait initialement comme objectif principal d'identifier des variantes dans les régions codantes de gènes candidats potentiellement impliqués dans la pathogénie de la SVA et comme objectif secondaire d'identifier les gènes candidats impliqués dans la voie métabolique de la pathogenèse de la SVA. On a utilisé l'approche d'étude d'association génétique par gènes candidats dans la première phase du projet, où 190 cas avec SVA et 192 témoins avaient été recrutés et dont les résultats ont été rapportés par Eyendja *et al* en 2011 (Eyendja C, 2011) (voir section 2.2.5.2).

Nous avons par la suite décidé de doubler la taille de la population et d'adopter une approche pangénomique pour l'étude. Les objectifs de cette deuxième phase ont été plus ambitieux, avec pour objectif principal l'identification de variantes génétiques nouvelles associées avec la SVA sur valve tricuspide par le génotypage de tout le génome (*whole-exome genotyping*), et pour objectif secondaire de tester l'hypothèse que les variantes génétiques déjà validées pour leur association avec d'autres maladies cardiovasculaires chroniques (MCAS, hypertension et diabètes) peuvent également être associées avec le risque de SVA. L'agrandissement de la taille de la population de l'étude principale a aussi donné l'opportunité de réaliser cette sous-étude centrée sur les possibles prédicteurs de progression de la SVA.

L'étude principale est déjà finalisée. En fait, deux autres sous-études basées sur la cohorte de l'étude principale viennent d'être publiées : une qui a évalué des polymorphismes génétiques associés avec les niveaux sériques d'HDL et des fonctionnalités de l'HDL *versus* le risque de SVA (Arsenault BJ *et al.*, 2014a); et l'autre qui a évalué des polymorphismes génétiques dans le gène LPA associés aux niveaux sériques de Lp(a), ainsi que les niveaux sériques de Lp(a) eux-mêmes, *versus* le risque de SVA (Arsenault BJ *et al.*, 2014b). Cette dernière sous-étude a démontré une association significative entre la présence de l'allèle de risque (G) du polymorphisme rs10455872 du gène LPA et un risque accru de développer une

SVA; résultat confirmé dans une deuxième cohorte et qui valide la conclusion de Thanassoulis G *et al.* (association positive entre la présence de l'allèle de risque (G) du SNP rs10455872 et le développement de calcification chez la valve aortique) (Thanassoulis G *et al.*, 2013).

L'association positive entre l'allèle de risque (G) du SNP rs10455872 du gène LPA et le risque de SVA rapportée par notre groupe (Arsenault BJ *et al.*, 2014b) et supportée par les données de la littérature (Thanassoulis G *et al.*, 2013) nous a permis d'explorer dans la présente sous-étude cette variante génétique en relation à son association avec la progression de la SVA. Les autres polymorphismes génétiques pour lesquels on a rencontré une association positive avec le risque de SVA lors des analyses préliminaires de l'étude principale n'ont pas été inclus dans la présente sous-étude parce nous tentons désormais de répliquer ces résultats dans d'autres cohortes génétiques afin de les valider.

# Objectifs

## 1. Objectif principal

- Caractériser la vitesse d'évolution de la SVA dans la population étudiée et vérifier si des données cliniques et échocardiographiques de base sont associées à cette progression.

### 1.1 Objectif(s) secondaire(s)

- Évaluer des biomarqueurs plasmatiques potentiels quant-à leur association avec la présence et la progression de la SVA calcifiée dégénérative sur valve tricuspidale.
- Évaluer si les variantes génétiques associées à la SVA rencontrées lors de l'étude principale sont aussi reliées à la progression de la SVA.

# Méthodes détaillées

## 1. Recrutement et sélection des patients

Le recrutement pour le projet principal « Aspects génétiques et moléculaires de la sténose valvulaire aortique » a été fait entre avril 2008 et décembre 2011. Nous avons identifié des cas (patients avec SVA à l'échocardiographie) et témoins (patients sans SVA à l'échocardiographie) potentiels au service d'échocardiographie, à la clinique de cardiologie externe et aux unités de séjour à l'hôpital de l'ICM. Les patients étaient ensuite invités à participer à la Biobanque de l'ICM, soit personnellement, soit par lettre standard suivie d'un appel téléphonique après quelques semaines. Une fois que les patients avaient accepté de faire partie de la Biobanque d'une manière libre et éclairée par signature du formulaire de consentement, ils étaient éligibles pour participer à l'étude principale. Nous avons ainsi réuni un échantillon final de 405 cas avec diagnostic de SVA et 415 témoins sans SVA, dont 385 cas et 404 témoins ont été considérés comme valides (données cliniques, échocardiographiques et génétiques complètes). L'accès aux données spécifiques et aux échantillons sanguins des participants de la Biobanque est seulement possible après approbation des comités scientifique et d'éthique de l'ICM, et du comité de gestion de la cohorte hospitalière.

Pour cette sous-étude, nous avons identifié, parmi les 385 patients SVA valides sélectionnés pour l'étude principale, tous les sujets qui avaient au moins 2 échocardiogrammes non-invasifs séparés par un intervalle minimum de 6 mois (soit un total de 126 patients); cet intervalle de temps étant celui le plus répandu dans la littérature sur le sujet (Bellamy MF *et al.*, 2002; Faggiano P *et al.*, 1992; Moura LM *et al.*, 2007; Otto CM *et al.*, 1989; Roger VL *et al.*, 1990; Rosenhek R *et al.*, 2004b). Nous avons aussi identifié, parmi les 404 patients sans SVA valides de l'étude principale, un nombre égal de témoins (126) appariés aux cas pour les mêmes critères cliniques du projet principal (âge, sexe, tabagisme, MCAS, dyslipidémie, utilisation de statines), en incluant aussi la présence d'hypertension et de diabète.



## **1.1 Critères d'inclusion**

### **Cas**

- Hommes ou femmes âgés de 18 ans ou plus, porteurs d'une SVA sur valve tricuspide diagnostiquée par échocardiographie. Le critère considéré pour définir le diagnostic de SVA à l'échocardiographie est une valeur de la vitesse transvalvulaire aortique moyenne  $\geq 2,5$  m/s (Baumgartner H *et al.*, 2009).
- Patients ayant accepté sur une base volontaire et par signature du formulaire de consentement éclairé de faire partie de la cohorte génétique hospitalière de l'ICM.
- Patients qui avaient déjà été sélectionnés pour faire partie de l'étude principale « Aspects génétique et moléculaire de la sténose valvulaire aortique » avec  $\geq 2$  échocardiogrammes après l'entrée à la Biobanque (séparés par un minimum de 6 mois).

### **Témoins**

- Hommes ou femmes âgés de 18 ans ou plus ne présentant pas de SVA à l'échocardiographie. Le critère considéré pour définir l'absence absolue de SVA à l'échocardiographie est une valeur de la vitesse transvalvulaire aortique maximale  $\leq 1,7$  m/s (valeur supérieure de la normale adoptée par le laboratoire d'échocardiographie de l'ICM).
- Patients ayant accepté sur une base volontaire et par signature du formulaire de consentement éclairé de faire partie de la cohorte génétique hospitalière de l'ICM.
- Patients qui avaient déjà été sélectionnés pour faire partie de l'étude principale « Aspects génétique et moléculaire de la sténose valvulaire aortique » et qui pouvaient être appariés aux cas de la sous-étude par des caractéristiques cliniques spécifiques (âge, sexe, tabagisme, MCAS, dyslipidémie, utilisation de statines, diabète, hypertension).

## **1.2 Critères d'exclusion**

### **Cas et Témoins**

Nous avons exclu, aussi bien parmi les cas que les témoins, les participants ayant des conditions médicales connues pour altérer le métabolisme phosphocalcique et l'inflammation, ce

qui pouvait amener à des conclusions biaisées dans nos analyses sur les possibles prédicteurs de la présence et la progression de la SVA. Ces conditions d'exclusion sont:

- **Insuffisance rénale sévère (créatinine  $\geq 200$   $\mu\text{mol/L}$  lors du recrutement à la Biobanque)**

L'insuffisance rénale est caractérisée par des altérations au niveau de la filtration glomérulaire, ce qui peut déclencher un déséquilibre du métabolisme phosphocalcique (Perkovic V *et al.*, 2003).

- **Hyperparathyroïdie**

L'hyperparathyroïdie est définie comme la sur-activité des glandes parathyroïdes, résultant dans la production en excès de l'hormone parathyroïdienne (*parathyroid hormone – PTH*). La PTH régule les niveaux physiologiques de calcium et phosphore; l'excès de PTH peut amener à une hypercalcémie et favorise le remodelage osseux (Fraser WD, 2009).

- **Maladie de Paget de l'os**

La maladie de Paget de l'os provoque un remodelage osseux important par un déséquilibre de la relation entre ostéoclastes et ostéoblastes (augmentation de l'activité des ostéoclastes et une réaction désorganisée des ostéoblastes) (Ralston SH, 2013).

- **Lupus érythémateux disséminé**

Le lupus érythémateux disséminé est une maladie autoimmune systémique qui peut affecter toutes les parties du corps, occasionnant ainsi de nombreuses réactions inflammatoires (Rahman A & Isenberg DA, 2008).

### **Cas seulement**

- SVA découlant de maladie inflammatoire rhumatismale,
- SVA post-traitement avec radiothérapie,
- SVA sur valve bicuspide, unicuspide ou quadricuspide,
- Avoir déjà eu un RVA au moment du recrutement par la Biobanque.

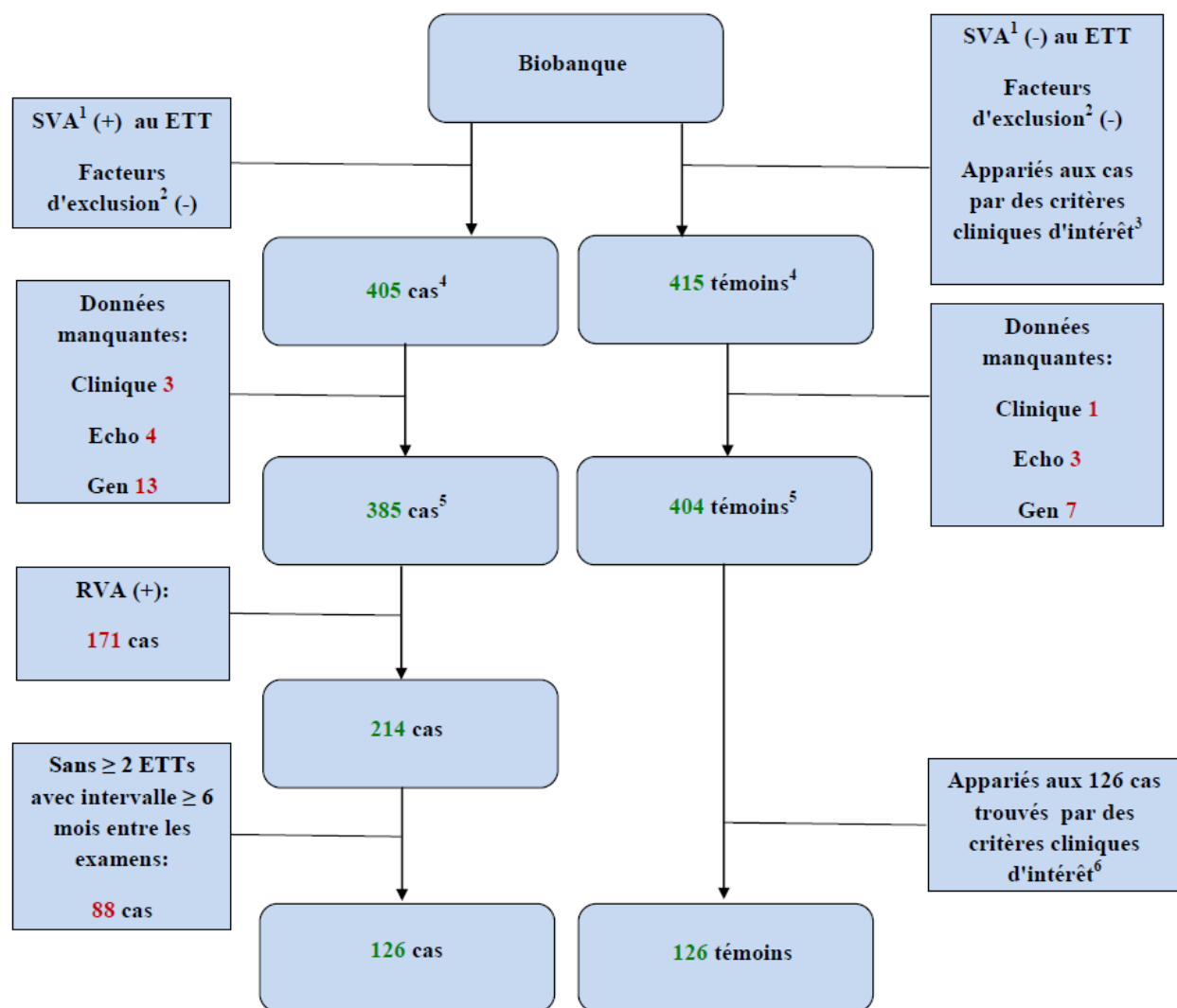
### **Témoins seulement**

- Sclérose valvulaire aortique. Le critère considéré pour définir la sclérose valvulaire aortique est soit une valeur de la vitesse transvalvulaire aortique maximale entre 1,7 et 2,5 m/s à

l'échocardiographie (Baumgartner H *et al.*, 2009), soit un épaissement ou une calcification focale des feuillets. J'ai révisé toutes les images échocardiographiques des contrôles potentiels afin de vérifier l'absence d'altérations au niveau de la valve aortique éventuellement non-mentionnées dans le rapport d'échocardiographie.

### **1.3 Résumé du processus de recrutement et sélection des patients**

Un résumé du processus de recrutement et sélection des patients pour cette sous-étude est présenté dans la Figure 12.



**Figure 12: Résumé du processus de recrutement et sélection des patients pour la sous-étude "Évolution échocardiographique et prédictors de progression de la sténose valvulaire aortique"**

1-SVA (sténose valvulaire aortique) dégénérative sur valve tricuspidé;

2-Cas et témoins: insuffisance rénale sévère (créatinine  $\geq 200 \mu\text{mol/L}$ ), Hyperparathyroïdie; Maladie de Paget de l'os, Lupus érythémateux disséminé. Cas seulement: SVA sur valve bicuspidé, unicuspidé ou quadricuspidé; SVA découlant de maladie inflammatoire rhumatismale; SVA post-traitement avec radiothérapie; SVA sur valve bicuspidé, unicuspidé ou quadricuspidé. Témoins seulement: sclérose valvulaire aortique.

3- Âge, sexe, tabagisme, maladie cardiaque athérosclérotique (MCAS), dyslipidémie, utilisation de statines (critères cliniques d'intérêt pour l'étude principale "Aspects génétique et moléculaire de la sténose valvulaire aortique" - SVAGeM).

4-Cohorte complète de l'étude principale SVAGeM.

5-Cohorte valide de l'étude principale SVAGeM.

6- Âge, sexe, tabagisme, maladie cardiaque athérosclérotique (MCAS), dyslipidémie, utilisation de statines + diabète et hypertension (critères cliniques d'intérêt pour la présente sous-étude "Évolution échocardiographique et prédictors de progression de la sténose valvulaire aortique").

ETT: échocardiographie transthoracique; Echo: échocardiographie; Gen: génétique (génotypage non-possible).

## 1.4 Possibilité de biais de sélection

### 1.4.1 Cas

Les objectifs principaux de cette sous-étude étaient la caractérisation de la vitesse d'évolution échocardiographique de la SVA dégénérative sur valve tricuspide dans une population de patients affectés par cette pathologie et l'identification des prédicteurs de cette progression. Pour atteindre ces objectifs, nous avons identifié parmi les 385 patients avec SVA de l'étude principale ceux dont l'évaluation de la progression de la SVA serait possible à partir d'analyses d'échocardiographies sériées. Tel que présenté dans la Figure ci-dessus, nous avons dû exclure 171 individus qui avaient déjà été soumis à un RVA avant leur recrutement par la Biobanque (impossibilité de suivre la progression échocardiographique de la SVA sur leur valve aortique native).

Parmi les 214 individus restants, seulement 126 patients avaient subi au moins 2 examens échocardiographiques (séparés par un intervalle minimum de 6 mois) après leur recrutement par la Biobanque et étaient ainsi éligibles pour la sous-étude. Ceci pourrait avoir engendré un biais de sélection concernant les cas, notamment des biais de référence et de perte au suivi.

- **Biais de référence:** Les médecins ont une tendance à demander des examens échocardiographiques plus fréquemment pour les patients avec SVA sévère ou avec plus de co-morbidités (Otto CM, 2010; Szklo M & Nieto FJ, 2000). Ainsi, il serait raisonnable de supposer que les patients avec  $\geq 2$  échocardiographies après l'entrée à la Biobanque pourraient avoir un niveau de SVA plus sévère et/ou plus de co-morbidités (tels que âge avancé, MCAS, hypertension, diabète, dyslipidémie et tabagisme) que les patients qui n'ont pas eu d'échocardiographie de contrôle. Ceci aurait le potentiel d'influencer non seulement la mesure de la progression échocardiographique de la SVA dans le temps (qui pourrait être précise seulement dans le contexte de la SVA sévère et non des autres stades d'évolution de la maladie) mais

également les analyses d'association entre des prédicteurs possibles et la progression échocardiographique de la SVA. Une association positive entre un facteur de risque et la progression de la SVA pourrait, par exemple, être surestimée juste à cause d'une plus grande présence du facteur de risque dans l'échantillon évalué *versus* le restant de la population source non-évalué.

- **Biais de perte au suivi:** La non-réalisation des échocardiographies de contrôle pour une partie de la population de cas de l'étude principale pourrait également s'expliquer par la perte au suivi. En effet, pour diverses raisons (décès, prise en charge dans une autre institution, abandon de traitement, etc.), les examens échocardiographiques de suivi n'ont pas été effectués à l'ICM. Or, il est plus commun que les patients perdus de vue soient en moins bonne santé que ceux qui restent en suivi régulier (Szklo M & Nieto FJ, 2000). Cette perte au suivi pourrait mener à une sous-estimation de la puissance d'un facteur de risque à prédire la progression échocardiographique de la SVA.

Afin de vérifier la possibilité de biais de sélection dans le choix de l'échantillon de cas de la présente sous-étude, nous avons comparé les 126 patients sélectionnés *versus* les 88 patients non-sélectionnés quant à leurs caractéristiques démographiques, les critères cliniques d'intérêt et la classification hémodynamique de la SVA (Tableau V):

**Tableau V: Caractéristiques des cas sélectionnés vs cas non-sélectionnés**

Variables	Cas sélectionnés (n = 126) Valeur	Cas non-sélectionnés (n = 88) Valeur	p
Sexe masculin (%)	65,1	60,2	NS
Âge (ans)	73,5 ± 7,1	72,9 ± 7,9	NS
Caucasiens (%)	100	100	NS
Tabagisme (%)	64,3	59,1	NS
MCAS (%)	46,0	43,2	NS
Hypertension (%)	79,4	87,5	NS
Diabète (%)	27,8	34,1	NS
Dyslipidémie (%)	73,8	75,0	NS
Statines (%)	71,4	72,2	NS
Classification SVA (%): Légère	22,2	26,1	0,002
Modérée	54,0	30,7	
Sévère	23,8	43,2	

Variables continues: moyenne ± écart-type; variables discrètes: (%)

On remarque que les 2 groupes avaient des caractéristiques démographiques et cliniques similaires, ce qui est en défaveur d'un biais de sélection. Toutefois, les 2 groupes étaient significativement différents concernant la classification de la sévérité hémodynamique de la SVA, avec une prédominance de SVA modérée dans le groupe des cas sélectionnés et de SVA sévère dans le groupe de cas non-sélectionnés. Cette observation laisse entrevoir la possibilité d'un biais de sélection de type perte au suivi qu'il faut certainement prendre en considération dans l'interprétation des résultats de cette sous-étude. Néanmoins, l'effet probable du biais serait d'amenuiser la puissance des facteurs de risque à prédire la progression de la SVA. Nous pensons donc que les associations positives demeurent pertinentes.

### 1.4.2 Témoins

Nous avons sélectionné un nombre de témoins égal au nombre de cas trouvés (n=126), lesquels ont été appariés aux cas par des critères cliniques d'intérêt (âge, sexe, tabagisme, MCAS, hypertension, diabète, dyslipidémie et utilisation de statines). Ce processus de sélection des témoins selon les critères cliniques peut induire un biais en choisissant principalement des patients porteurs d'une seule pathologie (MCAS par exemple). Ce biais favoriserait alors la comparaison entre la présence de SVA et la présence de la pathologie mentionnée et non la comparaison SVA *versus* non-SVA.

Afin d'estimer l'absence de biais dans la sélection des témoins, nous avons vérifié les raisons cliniques ayant indiqué leur échocardiographie de base et avons ainsi constaté une grande hétérogénéité, avec 28 indications différentes; les plus fréquentes étant l'arythmie (14,3%) et la MCAS (8,7%).

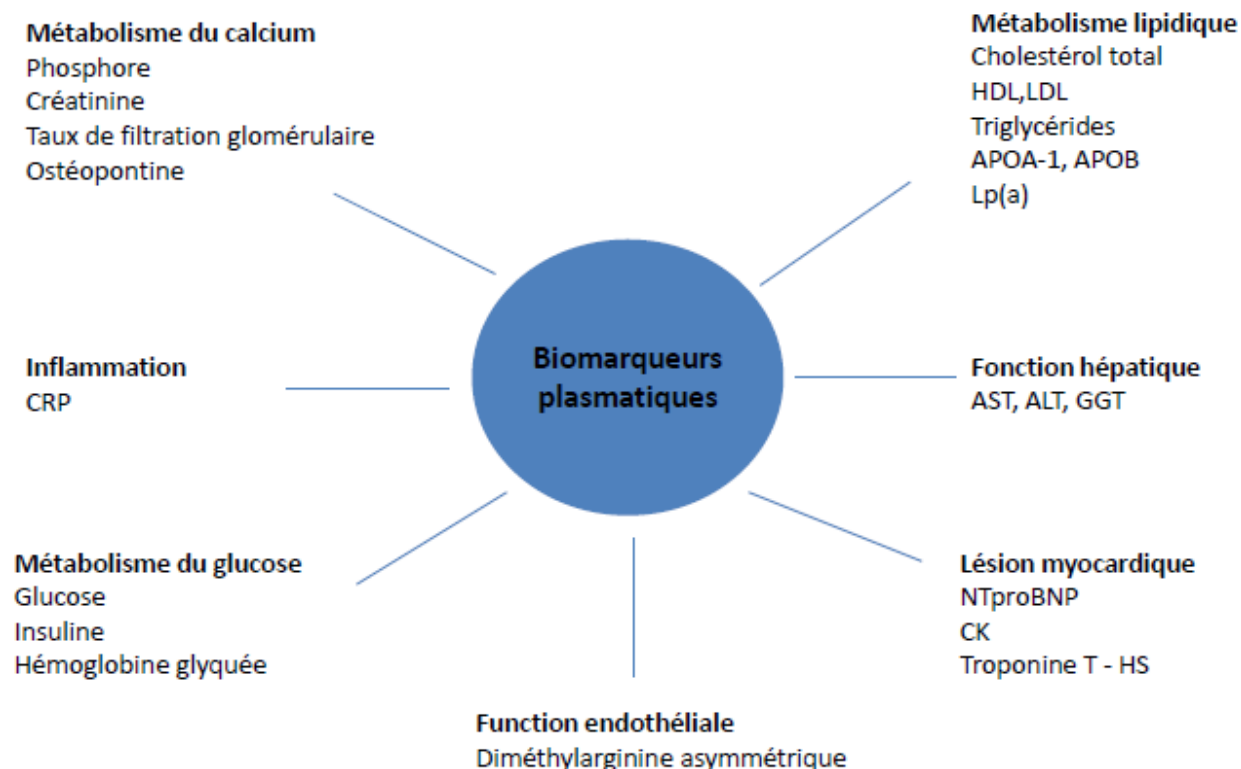
## 2. Choix des biomarqueurs plasmatiques

Nous avons choisi des biomarqueurs plasmatiques liés au risque cardiovasculaire en général (CT, HDL, LDL, ApoA-I, ApoB, Lp(a), glucose, insuline, créatinine, CRP, ALP, AST, ALT et GGT) (van Holten TC *et al.*, 2013), dont une partie a déjà été évaluée en relation à leur association avec la présence et/ou la progression de la SVA. Nous avons aussi sélectionné, à partir de la littérature, des biomarqueurs plasmatiques plus spécifiques déjà étudiés quant-à leur association à la présence de SVA mais dont la capacité de prédire la progression de la SVA n'a pas encore été exhaustivement évaluée (fétuine-A, protéine Gla de la matrice, diméthylarginine asymétrique, peptide natriurétique, ostéopontine, produit calcium-phosphore) ainsi que des biomarqueurs plasmatiques possiblement intéressants au vu des données actuelles de la littérature (angiotensine II, troponine-T HS, hémoglobine glyquée). Tous les biomarqueurs plasmatiques choisis ont également une possibilité de liaison avec une des étapes de la pathogenèse de la SVA, soit en relation avec les facteurs déclencheurs de la SVA (composantes lipidique, inflammatoire ou phosphocalcique), soit en relation avec les conséquences de la SVA



(hypertrophie du VG ou sa dysfonction) (Figure 13). Toutefois, nous avons été confrontés à quelques questions d'ordre pratique lors du processus final du choix des biomarqueurs plasmatiques à mesurer, à savoir :

- **L'EDTA est l'anticoagulant utilisé pour les échantillons de la Biobanque** (de Denus S *et al.*, 2010). L'acide éthylène-diamine-tétra-acétique (*ethylenediaminetetracetic acid - EDTA*) est un anticoagulant qui inhibe le processus de coagulation en retirant le calcium du sang (National Comitee for Clinical Laboratory Standards 2003). Ainsi, il n'est pas possible de mesurer le calcium à partir des échantillons de plasma conservés avec EDTA. Nous avons donc dû abandonner le produit calcium-phosphore comme biomarqueur à mesurer (le phosphore seul a pu être maintenu).
- **Les échantillons de la Biobanque ne sont pas pris ni à jeun ni dans des conditions spéciales.** Comme l'objectif principal de la cohorte génétique hospitalière est l'obtention d'ADN pour permettre des études en génétique, les échantillons sanguins de la Biobanque ne sont pas pris à jeun (de Denus S *et al.*, 2010; Politique-de-Gestion, 2010). Or, la fétuine-A doit être mesurée à partir des échantillons de plasma obtenus après 10-12 heures de jeun (Ix JH *et al.*, 2007; Koos R *et al.*, 2009). De plus, la mesure de l'angiotensine II nécessite que le prélèvement soit réalisé après un repos de 30-60 minutes en position couchée (Schmieder RE *et al.*, 2001; Côté N *et al.*, 2009). Ainsi, la fétuine-A et l'angiotensine II ont dû être retirés de la liste des biomarqueurs à mesurer.
- **Les restrictions de budget.** Finalement, pour des raisons budgétaires, nous avons dû choisir un seul des 2 biomarqueurs plasmatiques de la composante phosphocalcique (protéine Gla de la matrice ou ostéopontine). Comme la mesure de l'ostéopontine était plus accessible et n'avait pas encore été évaluée quant-à son association avec la progression de la SVA (contrairement à la protéine Gla de la matrice (Capoulade R *et al.*, 2012b)), nous avons choisi l'ostéopontine comme biomarqueur plasmatique spécifique à mesurer en lien avec la calcification au niveau de la valve aortique.



**Figure 13: Représentation du choix final des biomarqueurs plasmatiques pour la sous-étude « Évolution échocardiographique et prédictors de progression de la sténose valvulaire aortique ».**

### **3. Collecte des données**

#### **3.1 Données cliniques**

Les données démographiques et cliniques ont été recueillies par la Biobanque à travers un questionnaire standardisé et informatisé. Les mesures morphologiques (taille, poids, tour de hanche, tour de taille) et des signes vitaux (pression artérielle et fréquence cardiaque) ont été également faites par la Biobanque. Toutes ces données ont été transférées à l'équipe de recherche de façon encryptée.

### 3.2 Données échocardiographiques

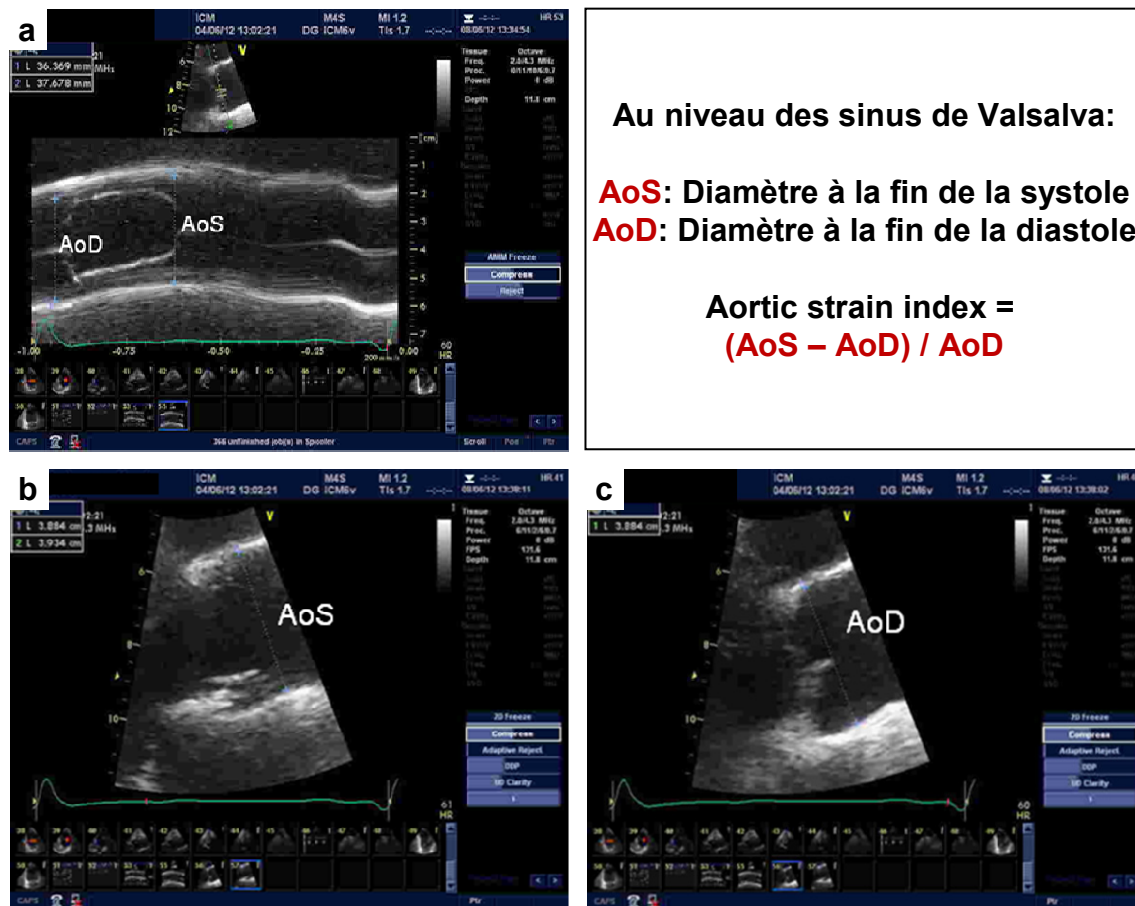
Pour l'étude principale, les données échocardiographiques de base (référant à l'échocardiogramme réalisé à la date la plus proche de la date d'entrée dans la Biobanque) de tous les patients ont été collectées par un chercheur à partir de la consultation des dossiers médicaux (électronique ou papier). Tous les rapports ont été digitalisés pour permettre à un 2<sup>ème</sup> chercheur de révéifier indépendamment les données et éviter des erreurs de saisie. Pour la sous-étude, les données échocardiographiques du deuxième (ou plus récent) échocardiogramme des cas ont été collectées de la même façon pour les patients qui avaient au moins 2 échocardiogrammes non-invasifs (séparés par un intervalle minimum de 6 mois) après le recrutement par la Biobanque.

Les mesures échocardiographiques habituelles avaient déjà été faites en accord avec les recommandations internationales (Baumgartner H *et al.*, 2009; Lang RM *et al.*, 2005) par l'équipe d'échocardiographistes de l'ICM au moment de l'examen (appareil Vivid 7 système Dimension - GE Healthcare Ultrasound, Horten, Vestfold, Norway) et elles sont décrites dans les rapports consultés par l'équipe de recherche pendant la collecte des données échocardiographiques.

Nous avons fait des mesures supplémentaires afin d'évaluer l'élasticité de l'aorte et le niveau de calcification de la valve aortique dans les échocardiogrammes de base des cas de la sous-étude. Ces mesures supplémentaires ont été obtenues avec le même type d'appareil que celui utilisé pour l'échocardiographie de base et ont été réalisées par un échocardiographe de l'équipe de recherche à partir des images des examens contenues dans la banque électronique de l'ICM (Radimage) et transférées de façon codée (dénominalisée) aux chercheurs après leur enregistrement en DVD.

- L'élasticité de l'aorte a été évaluée par la mesure de l'indice de la tension aortique (*aortic strain index*) (Nistri S *et al.*, 2008). Le choix d'obtenir cette variable fait suite à des résultats obtenus par notre groupe dans un modèle de lapin SVA où une augmentation de l'élasticité de la racine aortique était associée à une augmentation de l'AVA après infusion d'un mimétique d'HDL (Busseuil D *et al.*, soumis 2013). Nous avons alors émis l'hypothèse qu'une plus grande

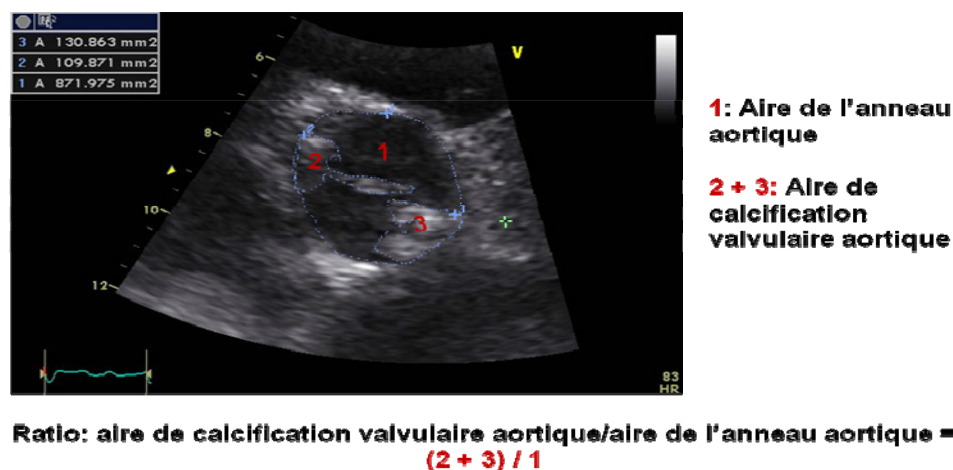
élasticité de la racine aortique à l'échocardiogramme de base pourrait être associée à une progression plus lente de la SVA. Chaque paramètre inclus dans le calcul de l'indice de la tension aortique correspond à la moyenne de 3 mesures différentes. Les mesures ont été exécutées dans les modalités échocardiographiques unidimensionnelle (Mode-M) et bidimensionnelle (2D) (Figure 14).



**Figure 14: Exemples des mesures échocardiographiques d'élasticité de l'aorte en mode M (a) et en 2D (b et c). Aortic strain index – indice de tension aortique.**

- Les niveaux de calcification valvulaire aortique ont été obtenus à partir des images de l'échocardiographie de base. Cette variable n'était pas disponible dans les rapports échocardiographiques mais elle a déjà été démontrée comme étant associée à la progression dans le temps de la SVA (Bahler RC *et al.*, 1999; Palta S *et al.*, 2000) et au pronostic des patients (Rosenhek R *et al.*, 2000; Rosenhek R *et al.*, 2004a). Jusqu'à présent, il n'y a pas de méthode

bien validée pour déterminer le niveau de calcification valvulaire aortique d'une manière objective à l'échocardiographie. Des mesures quantitatives ont été proposées (*aortic backscatter* – rétrodiffusion de l'aorte (Ngo DT *et al.*, 2004); *aortic gray scale mean* – niveau de gris aortique moyen (Yousry M *et al.*, 2012)), mais n'ont pas encore été pleinement acceptées et reproduites dans la littérature. La seule méthode non-invasive validée capable de déterminer quantitativement la calcification valvulaire aortique reste la tomodensitométrie (Lindman BR *et al.*, 2013). La meilleure fenêtre échocardiographique pour apprécier l'anatomie valvulaire aortique et son niveau de calcification est la voie parasternale axe court (Feigenbaum H 2004) (Otto CM, 2013). Nous avons donc mesuré la calcification valvulaire aortique à partir de cette image de 2 façons: (1) d'une manière subjective, en utilisant les critères proposés par Rosenhek *et al* (Rosenhek R *et al.*, 2000) et largement validés par la littérature (voir Figure 9); (2) d'une manière plus objective et semi-quantitative, à partir d'une nouvelle méthode proposée par notre équipe pour cette sous-étude: le ratio entre l'aire de calcification valvulaire et l'aire de l'anneau valvulaire. L'idée est de pouvoir estimer plus objectivement la quantité de calcium sur la valve pour chaque patient en l'indexant à l'aire de son propre anneau valvulaire aortique. Pour cela, j'ai mesuré les aires de tous les points de calcification sur la valve par la planimétrie des points de calcification et additionné les valeurs obtenues. Par planimétrie, on obtient également l'aire de l'anneau aortique. Toutes les mesures ont été faites 3 fois puis moyennées. Ensuite, on fait le ratio entre la moyenne des aires de calcification valvulaire aortiques et la moyenne des aires de l'anneau aortique obtenues (Figure 15).



**Figure 15: Nouvelle mesure de la calcification valvulaire aortique – ratio entre l’aire de calcification valvulaire aortique et l’aire de l’anneau aortique.**

Des restrictions de temps et de personnel n'ont, jusqu'à présent, pas permis la réalisation des calculs des variabilités intra- et inter-observateurs des mesures échocardiographiques supplémentaires. Ceci constitue une limitation de cette sous-étude qui doit être prise en compte lors de l'évaluation des résultats obtenus à partir des variables générées par ces mesures. Les variabilités intra et inter-observateurs des mesures échocardiographiques supplémentaires sont des facteurs importants qui devront être déterminés lors de la poursuite du projet.

### 3.3 Biomarqueurs plasmatiques

Les échantillons de plasma sanguin et de cellules rouges ont été fournis par la Biobanque à l'équipe de recherche de façon dénominalisée. La mesure des biomarqueurs plasmatiques a été effectuée par la méthode ELISA pour la dyméthylarginine asymétrique (ADMA) et pour l'ostéopontine (respectivement, kit ELISA ADMA Xpress - Alpcos [anticorps polyclonaux contre le dérivé d'ADMA; coefficient de variation (CV) de la validation intra-essai: 5,8-7,9%; CV de la validation inter-essai: 7,6-10,8%; seuil de détection: 0,04 µmol/L; seuil de quantification: 0,1 µmol/L; ADMA Xpress ELISA Kit Manual 2013] et kit ELISA Human Osteopontin Quantikine - R&D [méthode sandwich - anticorps monoclonaux et polyclonaux spécifiques pour l'ostéopontine; CV de la validation intra-essai: 2,6-4,0%; CV de la validation inter-essai: 5,4-

6,6%; seuil de détection: 0,011 ng/ml; seuil de quantification: 0,312 ng/ml; Quantikinine ELISA Human Osteopontin-OPN immunoassay: product data sheet 2012]). Les autres biomarqueurs ont été mesurés par les méthodes standards adoptées par le laboratoire d'analyses cliniques de l'ICM. L'hémoglobine glyquée a été le seul biomarqueur mesuré à partir des cellules rouges et non du plasma sanguin. Toutes les procédures ont été réalisées dans le laboratoire d'analyses biochimiques cliniques de l'ICM, sous la supervision du Dr. Joël Lavoie.

### **3.4 Génétiques**

Toutes les mesures génétiques ont été faites au Centre de Pharmacogénomique de l'ICM, sous la supervision de la Dre Marie-Pierre Dubé. Les échantillons d'ADN de tous les sujets ont été transférés, de façon codée, par la Biobanque à l'équipe de recherche dans le cadre de l'étude principale. Leur analyse a été faite en accord avec le protocole de cette étude et on essaie présentement de répliquer les résultats initiaux dans d'autres cohortes génétiques pour bien les valider.

Les échantillons d'ADN ont été évalués dans une approche pangénomique, en utilisant 2 plateformes pour le génotypage: l'Infinium HumanExome Beadchip et le Cardio-Metabohip (Illumina, CA, USA):

- L'Infinium HumanExome Beadchip peut identifier >250 000 marqueurs génétiques sélectionnés à partir de >12 000 séquences entières d'exome et des séquences d'exome sélectionnées pour mettre l'accent sur des SNP pertinents au niveau fonctionnel. Plus de 50% des SNP inclus dans cette plateforme sont non-synonymes, en étant >95% localisés dans des régions codantes et >20% localisés dans des sites d'épissage de l'exome (HumanOmniexpress Beadship, Illumina).
- La plateforme de génotypage Cardio-Metabohip a été conçue pour tester >200 000 SNP identifiés à partir de méta-analyses pangénomiques concernant les paramètres cardiovasculaires et métaboliques comme les niveaux de lipides, niveaux de glycémie, diabète, pression artérielle, intervalle QT à l'ECG, ainsi que la taille et le poids corporel. Cette plateforme fournit aussi une cartographie fine et détaillée des loci validés au niveau de significativité pangénomique pour tous ces paramètres (Voight BF *et al.*, 2012).

### 3.5 Protection et conservation des données

Toutes les données (cliniques, biomarqueurs sériques, génétiques) sont conservées au laboratoire de recherche fondamentale du Dr Jean-Claude Tardif de façon dénominalisée dans des bases de données sécurisées, accessibles exclusivement aux principaux investigateurs de l'étude.

### 3.6 Résumé du processus de collecte des données

Un résumé du processus de collecte des données dans la présente étude est présenté dans le Tableau VI.

**Tableau VI: Résumé du processus de collecte des données**

<b>Cliniques n=252</b>	<b>Échocardiographiques n=252</b>	<b>Génétiques n=242</b>	<b>Biomarqueurs plasmatiques n=80*</b>
Données collectées par la Biobanque (questionnaire digital standard). Échantillon sanguin et mesures biométriques pris avant l'entrevue.  Sélection, validation, transformation et analyse des données faites par les chercheurs.	Données collectées par 1 chercheur à partir des dossiers médicaux.  Tous les rapports sont digitalisés pour permettre la vérification indépendante des données par un 2 <sup>ème</sup> chercheur afin d'éviter des erreurs de collecte.  Nouvelles mesures seulement pour les cas (élasticité de l'aorte et calcification de la valve aortique) faites par 1 chercheur à partir des images du 1 <sup>er</sup> échocardiogramme.	Échantillons sanguins (ADN) fournis par la Biobanque.  Genotypage par Infinium HumanExome Beadchip and CardioMetaboChip.  Mesures faites par le Centre de Pharmacogénomique de l'ICM.	Échantillons sanguins (plasma et cellules rouges) fournis par la Biobanque  Biomarqueurs plasmatiques mesurés par ELISA ou par des méthodes habituelles  Mesures faites par le Laboratoire d'Analyses Cliniques de l'ICM

\* Mesures des biomarqueurs plasmatiques faites seulement pour un sous-groupe de 80 patients. Voir section 5 des Méthodes Détaillées.



## **4. Aspects statistiques**

### **4.1 Critères d'évaluation**

#### **4.1.1 Évaluation de la capacité des caractéristiques cliniques, des paramètres échocardiographiques, des biomarqueurs plasmatiques et des variantes génétiques à prédire la progression de la SVA**

Pour cette évaluation, faite à partir des 126 patients avec SVA (cas), nous avons utilisé comme critère la différence entre les 2 échocardiographies des valeurs des paramètres échocardiographiques d'intérêt, normalisée par l'intervalle entre les 2 examens (taux de changement par année):

$$(\text{Valeur}_{\text{dernière écho}} - \text{valeur}_{\text{première écho}}) / \text{temps en années entre les 2 échos}$$

Nous avons choisi comme paramètres échocardiographiques d'intérêt les mesures les plus importantes pour le diagnostic et la détermination de la sévérité de la SVA, à savoir la vitesse transvalvulaire aortique maximale, le gradient transvalvulaire aortique moyen, l'AVA et l'AVA indexée.

#### **4.1.2 Évaluation de l'association des biomarqueurs plasmatiques avec la présence de SVA**

Pour cette évaluation, faite à partir des cas et des témoins (n=252), nous avons utilisé comme critère la valeur moyenne (ou médiane, si la distribution des valeurs était anormale) des mesures des biomarqueurs plasmatiques dans le groupe des cas *versus* la valeur moyenne (ou médiane) de ces mesures dans le groupe des témoins:

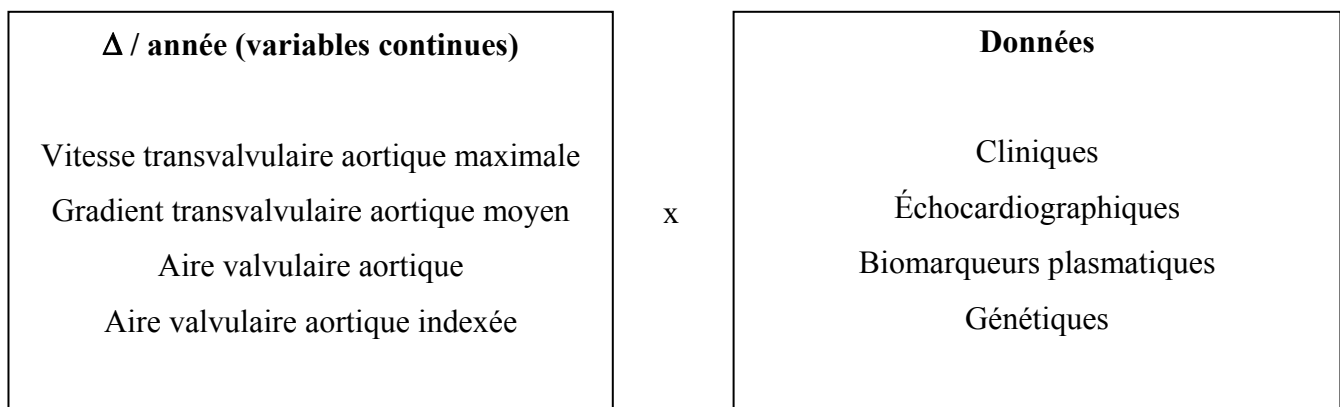
$$\frac{\text{Valeur moyenne biomarqueur plasmatique}_{\text{cas}}}{\text{Valeur moyenne biomarqueur plasmatique}_{\text{témoins}}}$$

## 4.2 Analyses statistiques

### 4.2.1 Évaluation de la capacité des caractéristiques cliniques, des paramètres échocardiographiques, des variantes génétiques et des biomarqueurs plasmatiques à prédire la progression de la SVA

#### 4.2.1.1 Analyses univariées

Nous avons défini la progression de la SVA comme la variation ( $\Delta$ ) annualisée de 4 paramètres échocardiographiques d'intérêt (vitesse transvalvulaire aortique maximale, gradient transvalvulaire aortique moyen, AVA et AVA indexée). Ce sont donc les variations annualisées de ces 4 paramètres qui ont constitué les variables dépendantes (toutes continues) évaluées lors des analyses univariées. Nous avons vérifié la présence ou l'absence d'association entre chaque variable dépendante et chaque variable indépendante (données cliniques, échocardiographiques, génétiques et biomarqueurs plasmatiques) en utilisant le test statistique adéquat selon la nature des variables indépendantes.



- Test-t de Student ou test de Wilcoxon selon la distribution des données si le prédicteur à tester était une variable dichotomique;
- Analyse des variances - ANOVA (*analysis of variances*) ou Kruskal-Wallis selon la distribution des données si le prédicteur à tester était une variable à plusieurs catégories;
- Coefficient de corrélation de Pearson ou Spearman selon la distribution des données si le prédicteur à tester était une variable continue.

La distribution des données (normale ou anormale) des variables continues a été vérifiée par le test de Kolmoronov-Smirnov. Un seuil de significativité inférieur à 5% ( $p < 0,05$ ) a été utilisé pour les analyses d'association univariées. Les analyses ont été effectuées avec le software SAS package (SAS Institute, Cary, NC).

Une liste de toutes les variables indépendantes évaluées lors des analyses univariées est présentée dans le Tableau VII.

**Tableau VII: Variables indépendantes évaluées par des analyses univariées**

Données	Variables indépendantes évaluées
<b>Cliniques</b>	Âge; Sexe; Taille; Poids; BSA; BMI Tour de taille (TT); Tour des hanches (TH); Ratio TT/TH; TAS; TAD; Fréquence cardiaque; Tabagisme; MCAS; ACV; Hypertension artérielle; Diabète; Dyslipidémie; Statines; Warfarin; Calcium (supplément); Vitamine D (supplément); IECA; BRA; Bisphosphonates; B-bloqueurs; Anti-arythmiques; Bloqueurs des canaux calciques; Aspirine; Autres anti-plaquettaires; Diurétiques
<b>Échocardiographiques<sup>α</sup></b>	VitMax_1; GradMoy_1; Aire_1; AireInd_1; GradMax_Bern_1 Classification hémodynamique - SVA_1 DDVG_1; DSVG_1; FEVG_1; AltSegVG_1; Diamètre - SIV_1; Diamètre - PIL_1; Diamètre - OG_1; Volume indexé - OG_1; DysfDiastVG -P_1; DysfDiastVG -C_1 RWT_1; RC_1; Masse VG indexée_1; HVG_1; Géométrie du VG_1 <sup>β</sup> Sténose mitrale_1; Régurgitation mitrale-P_1; Régurgitation mitrale-C_1 AoAsc; AoDiast2D_1; AoSyst2D_1; AoStrainInd2D_1; AoDiastMM_1; AoSystMM_1; AoStrainIndMM_1; AnnAo_1; AireCalAo_1; AnnAireCalInd_1; Score de calcification_1 <sup>∞</sup>
<b>Biomarqueurs plasmatiques</b>	CT; LDL; HDL; Triglycérides; APOA1; APOB; Ratio APOB/APOA1; Lp(a) Glucose; insuline; Hémoglobine glyquée CRP; AST; ALT; GGT; Créatinine; GFR; Phosphore Dyméthylarginine asymétrique; Ostéopontine
<b>Génétiques</b>	Polymorphisme rs10455872 du gène LPA (allèle de risque G)

<sup>α</sup> Toutes les variables échocardiographiques sont dérivées du premier échocardiogramme (\_1);

<sup>β</sup> Géométrie du VG: 1- normal, 2-RC, 3- hypertrophie concentrique, 4-hypertrophie excentrique;

<sup>∞</sup> Proposé par Rosenhek R *et al.*, 2000

BSA: *body surface area* (surface corporelle); BMI: *body mass index* (indice de masse corporelle); TAS: tension artérielle systolique; TAD: tension artérielle diastolique; MCAS: maladie cardiaque athérosclérotique; ACV: accident vasculaire cérébral; IECA: inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine; BRA: bloqueurs des récepteurs de l'angiotensine; VitMax\_1: vitesse transvalvulaire aortique maximale; GradMoy\_1: gradient transvalvulaire aortique moyen; Aire\_1: aire valvulaire aortique; AireInd\_1: aire valvulaire aortique indexée; GradMax\_Bern: gradient transvalvulaire aortique maximal calculé par l'équation de Bernoulli; SVA: sténose valvulaire aortique; VG: ventricule gauche; DDVG: diamètre diastolique final du VG; DSVG: diamètre systolique final du VG; FEVG: fraction d'éjection du VG; AltSegVG: altérations segmentaires de la fonction du VG; SIV: septum inter-ventriculaire; PIL: parois inféro-latérale; OG: oreillette gauche; DysfDiastVG: dysfonction diastolique du VG; P: présence; C: classification; AoAsc: diamètre de l'aorte dans sa portion ascendante; AoDiast: diamètre diastolique final de l'aorte au niveau des sinus de Valsalva; AoSyst: diamètre systolique final de l'aorte au niveau des sinus de Valsalva; AoDiast2D\_1: AoDiast mesuré en 2D; AoSyst2D\_1: AoSyst mesuré en 2D; AoStrainInd2D\_1: *aortic strain index* (indice de tension aortique) =  $(\text{AoSyst2D}_1 - \text{AoDiast2D}_1) / \text{AoDiast2D}_1$ ; AoDiastMM\_1: AoDiast mesuré en Mode-M; AoSystMM\_1: AoSyst mesuré en Mode-M; AoStrainIndMM\_1 = *aortic strain index* (indice de tension aortique) =  $(\text{AoSystMM}_1 - \text{AoDiastMM}_1) / \text{AoDiastMM}_1$ ; AnnAo\_1: aire de l'anneau aortique; AireCalAo\_1: aire de calcification valvulaire aortique; AnnAireCalInd\_1 = ratio entre l'aire de calcification valvulaire et l'aire de l'anneau valvulaire ( $\text{AireCalAo}_1 / \text{AnnAo}_1$ ); CT: Cholestérol total; LDL: *low density lipoprotein* (lipoprotéine de basse densité); HDL: *high density lipoprotein* (lipoprotéine de haute densité); APOA: apolipoprotéine A; APOB: apolipoprotéine B; Lp(a): lipoprotéine(a); CRP: *C-reactive protein* (protéine C réactive); AST: *aspartate transaminase* (transaminase d'aspartate); ALT: *alanine transaminase* (transaminase d'alanine); GGT: *gamma-glutamyl transferase* (transférase de gamma-glutamine); GFR: *glomerular flow rate* (taux de filtration glomérulaire); LPA: gène référant à la lipoprotéine(a).

#### **4.2.1.2 Analyses multivariées**

Pour les analyses multivariées nous avons pris comme variables dépendantes (ou cibles) les mêmes variables dépendantes décrites pour les analyses univariées. Pour chaque variable dépendante (toutes continues) nous avons calculé un modèle de prévision multivarié à partir des analyses de régression linéaire.

En raison d'un problème technique pour une partie des échantillons de plasma de la Biobanque, lesquels avaient été recueillis selon une ancienne méthode de prélèvement (voir section 5 des Méthodes Détaillées), nous avons préféré ne pas mesurer pour l'instant les biomarqueurs plasmatiques pour tous les cas de notre population. Ainsi, dans les analyses multivariées concernant la progression de la SVA, nous avons seulement inclus les données cliniques, échocardiographiques et génétiques (ceci uniquement en relation avec le gène LPA). Pour les biomarqueurs plasmatiques il nous a été seulement possible, à l'heure actuelle, de faire des analyses univariées préliminaires. Toutefois, nous avons proposé et développé une solution pour répondre à ce problème technique (voir section 5 des Méthodes Détaillées). Cette solution devrait permettre la finalisation des mesures des biomarqueurs plasmatiques dans notre cohorte puis l'inclusion de ces biomarqueurs aux analyses multivariées concernant la progression de la SVA dans des études complémentaires futures.

Nous avons ainsi considéré comme candidates aux modèles multivariés toutes les variables indépendantes (catégorielles et continues) relatives aux données cliniques, échocardiographiques et génétiques qui ont été corrélées significativement aux 4 variables dépendantes dans les analyses univariées ( $p < 0,05$ ). Nous avons également ajouté les variables indépendantes dont l'association avec les variables dépendantes dans les analyses univariées avait atteint un seuil  $< 0,2$ . Pour les cas où les variables candidates continues n'étaient pas normalement distribuées nous avons soit procédé à une transformation en logarithme naturel, soit supprimé des observations extrêmes.

Certaines variables indépendantes présentaient des observations manquantes qui correspondaient à plus de 12% du total des 126 observations. Ces variables indépendantes n'ont alors pas été prises en compte lors de la construction des modèles multivariés même si elles avaient une association significative avec les variables dépendantes lors des analyses univariées.

Le seuil de 12% a été adopté suite à l'évaluation de la base de données par l'équipe de Biostatistique du MHICC (*Montreal Health Innovations Coordinating Center*) qui est responsable des analyses statistiques de l'étude et qui possède une vaste expérience et expertise dans le domaine. Dix variables indépendantes ont ainsi été exclues des analyses multivariées et sont présentées dans le Tableau VIII.

**Tableau VIII: Variables indépendantes significatives aux analyses univariées mais exclues des analyses multivariées (n manquant >12% du total des 126 observations)\***

Variables	n présent	n manquant	% total manquant
DSVG_1	98	28	22,2
Volume Indexé - OG_1	41	85	67,4
DysfDiastVG-P_1	87	39	31
DysfDiastVG-C_1	87	39	31
AoDiastMM_1	78	48	38
AoSystMM_1	78	48	38
AoStrainIndMM_1	78	48	38
AnnAo_1	111	15	12
AireCalAo_1	111	15	12
AnnAireCalInd_1	111	15	12

\* Relatives aux données cliniques, échocardiographiques et génétiques seulement.

(\_1) Variables échocardiographiques référentes au premier échocardiogramme

VG: ventricule gauche; DSVG: diamètre systolique final du VG; OG: oreillette gauche; DysfDiastVG: dysfonction diastolique du VG; P: présence; C:classification; AoDiast: diamètre diastolique final de l'aorte au niveau des sinus de Valsalva; AoSyst: diamètre systolique final de l'aorte au niveau des sinus de Valsalva; AoDiastMM\_1: AoDiast mesuré en Mode-M; AoSystMM\_1: AoSyst mesuré en Mode-M; AoStrainIndMM\_1= *aortic strain index* (indice de tension aortique) =  $(\text{AoSystMM}_1 - \text{AoDiastMM}_1) / \text{AoDiastMM}_1$ ; AnnAo\_1: aire de l'anneau aortique; AireCalAo\_1: aire de calcification valvulaire aortique; AnnAireCalInd\_1=ratio entre l'aire de calcification valvulaire et l'aire de l'anneau valvulaire ( $\text{AireCalAo}_1 / \text{AnnAo}_1$ ).

Le phénomène de multi-colinéarité dans les modèles a été déterminé par le Variance Inflation Factor (VIF). Un  $VIF > 10$  suggère une forte corrélation entre les variables indépendantes. Dans les cas de  $VIF > 10$  lors du processus de construction des modèles, nous avons exclu une des variables indépendantes fortement corrélées.

Finalement, dans les modèles multivariés pour les 4 variables dépendantes, nous avons décidé de forcer l'inclusion de l'âge et du sexe (variables indépendantes pour lesquelles il est important d'ajuster les modèles multivariés afin d'éviter toute confusion), ainsi que la valeur de base de chaque paramètre échocardiographique d'intérêt (paramètre\_1), même si l'association de ces variables indépendantes aux variables dépendantes lors des analyses univariées n'avait pas atteint la cible  $p < 0,2$ . À l'exception des variables nommées ci-dessus, un seuil de significativité inférieur à 5% ( $p < 0,05$ ) pour les coefficients de corrélation  $\beta$  des variables indépendantes à l'analyse de régression linéaire était nécessaire pour les considérer significatives aux analyses multivariées et les maintenir dans le modèle multivarié.

Une description schématique des variables cibles et des équations de base des modèles multivariés est présentée ci-dessous:

**Variables cible :**

**$\Delta$  / année (variables continues)**

Vitesse transvalvulaire aortique maximale : **VitMax\_N**

Gradient transvalvulaire aortique moyen : **GradMoy\_N**

Aire valvulaire aortique : **Aire\_N**

Aire valvulaire aortique indexée : **AireInd\_N**

**Équations de base des modèles multivariés:**

$$\text{VitMax\_N} = \text{Constante} + \beta_1 (\text{âge}) + \beta_2 (\text{sexe}) + \beta_3 (\text{VitMax\_1}) + \beta_n (\text{variables significatives})$$

$$\text{GradMoy\_N} = \text{Constante} + \beta_1 (\text{âge}) + \beta_2 (\text{sexe}) + \beta_3 (\text{GradMoy\_1}) + \beta_n (\text{variables significatives})$$

$$\text{Aire\_N} = \text{Constante} + \beta_1 (\text{âge}) + \beta_2 (\text{sexe}) + \beta_3 (\text{Aire\_1}) + \beta_n (\text{variables significatives})$$

$$\text{AireInd\_N} = \text{Constante} + \beta_1 (\text{âge}) + \beta_2 (\text{sexe}) + \beta_3 (\text{AireInd\_1}) + \beta_n (\text{variables significatives})$$

Une fois les 4 modèles multivariés définis, ils ont été testés pour la présence d'interactions significatives entre les variables indépendantes. Pour chaque modèle, la première étape du test a été exécutée de la façon suivante: 1) une nouvelle variable (terme d'interaction) formée par le produit des 2 variables impliquées dans l'interaction à tester a été créé; puis 2) cette nouvelle variable a été incluse individuellement (seulement un terme d'interaction à la fois) dans le modèle multivarié original pour vérifier si son coefficient de corrélation  $\beta$  était significatif au seuil de 0,05. La deuxième partie du test consistait en un processus de sélection progressif (*stepwise*) incluant tous les termes d'interaction significatifs de la première partie du test afin de créer un nouveau modèle multivarié unique. Un seuil de significativité de 0,05 dans le processus progressif (*stepwise*) pour les coefficients de corrélation  $\beta$  était nécessaire pour maintenir les termes d'interaction dans le nouveau modèle.

Finalement, avec l'objectif d'identifier l'effet réel sur les variables dépendantes des variables indépendantes encore impliquées dans des interactions significatives dans le nouveau modèle multivarié, les valeurs  $\beta$  de ces variables indépendantes ont été calculées et analysées séparément pour chaque catégorie (variables dichotomiques) ou valeur des quartiles (variables continues) des autres variables indépendantes impliquées dans l'interaction. Par exemple, si une variable indépendante avait une interaction avec le sexe, son  $\beta$  était calculé et analysé séparément pour les hommes et pour les femmes. De même, pour une variable indépendante impliquée dans une interaction avec l'âge, son  $\beta$  était calculé et analysé séparément pour les valeurs des quartile 1, médiane et quartile 3 de l'âge.

En raison de la nature exploratoire des analyses proposées, les valeurs p n'ont pas été ajustées pour les comparaisons multiples. Toutes les analyses ont été effectuées avec le logiciel SAS package (SAS Institute, Cary, NC).



## **4.2.2 Évaluation de l'association des biomarqueurs plasmatiques avec la présence de SVA**

### **4.2.2.1 Analyses univariées**

Lors des analyses univariées nous avons comparé la valeur moyenne (ou médiane si distribution anormale) des mesures des biomarqueurs plasmatiques du groupe des cas *versus* celle du groupe des témoins en utilisant le test-t de Student ou le test de Wilcoxon selon la distribution des données (vérifiée par le test de Kolmoronov-Smirnov). Un seuil de significativité inférieur à 5% ( $p < 0,05$ ) a été utilisé pour les analyses d'association univariées. Les analyses ont été effectuées avec le logiciel SAS package (SAS Institute, Cary, NC).

### **4.2.2.2 Analyses multivariées**

Nous prévoyons de faire des analyses multivariées concernant la présence de SVA *versus* les biomarqueurs plasmatiques. La variable dépendante (ou cible) sera la présence ou non de SVA et les analyses seront faites par régression logistique.

Comme pour les analyses multivariées concernant la progression de la SVA, nous considérerons comme candidates au modèle multivarié les variables indépendantes (biomarqueurs plasmatiques) significativement associées à la présence de SVA aux analyses univariées ( $p < 0,05$ ) ou celles qui n'étaient pas significatives ayant une valeur  $p < 0,2$ . La variable âge, dont l'appariement parfait entre les cas et témoins n'a pas été atteint (voir section 1.1 des Résultats Complémentaires), sera également incluse dans le modèle. Un seuil de significativité inférieur à 5% ( $p < 0,05$ ) pour les coefficients de corrélation  $\beta$  de chaque variable indépendante aux analyses de régression logistique sera nécessaire pour les maintenir dans le modèle. La présence d'interactions entre les variables indépendantes dans les modèles multivariées sera testée de façon semblable à la méthode pour le test d'interactions utilisée pour les modèles multivariés des prédictors de la progression de la SVA (voir section 4.2.1.2).

Étant donné le problème technique avec les échantillons de plasma cité précédemment, nous n'avons pas pu mesurer les biomarqueurs plasmatiques dans tous les cas et témoins de notre cohorte. Ainsi, le nombre de sujets où les mesures ont été effectivement effectuées était insuffisant pour une analyse multivariée adéquate et nous avons préféré ne pas la réaliser pour éviter des conclusions possiblement erronées. Jusqu'à présent, l'association entre des

biomarqueurs plasmatiques et la présence de SVA n'a donc été évaluée que par des analyses univariées. Une étude est actuellement en cours pour résoudre ce problème technique afin de nous permettre d'évaluer les biomarqueurs plasmatiques de toute la cohorte, qui pourront alors être inclus dans un modèle de prévision multivariée concernant la présence de SVA.

## 5. L'étude VALID-ACTION

Les échantillons de plasma sanguin et de cellules rouges pour cette sous-étude ont été fournis par la Biobanque de l'ICM à l'équipe de recherche de façon codée. Cependant, au moment de la demande de ces échantillons, la Direction de la Biobanque nous a averti d'un important problème structurel et technique concernant les échantillons de plasma et de *buffy coat* (globules blancs + plaquettes): lors des premières années de la Cohorte, les échantillons de sang collectés restaient entreposés à 4°C pendant des intervalles de temps qui pouvaient varier d'un patient à l'autre, avant leur traitement (centrifugation et séparation des composants sanguins) et entreposage final à -80°C (Figure 16). À partir de 2009, une méthode plus rigoureuse corrigeant ce problème a été adoptée (Figure 17) et depuis 2011 les participants dont les échantillons ont été recueillis selon la précédente méthode et qui avaient accepté d'être recontactés sont invités à donner un deuxième échantillon sanguin. Toutefois, les spécimens biologiques des patients qui n'avaient pas accepté d'être recontactés ou qui sont décédés depuis resteront ceux collectés selon l'ancienne méthode. Aussi, il y a des projets comme la présente sous-étude, avec un suivi longitudinal, qui nécessitent de faire des mesures spécifiquement à partir des échantillons recueillis au moment du recrutement à la Biobanque.

Près des deux tiers des patients de notre cohorte ont eu leurs échantillons recueillis selon l'ancienne méthode au moment du recrutement à la Biobanque. La qualité de l'ADN obtenu à partir des globules blancs ne semble pas être affectée par une période d'entreposage du sang total à 4°C plus prolongée (Halsall A et al., 2007), toutefois ceci pourrait influencer la mesure de certains biomarqueurs plasmatiques (Cuhadar S *et al.*, 2012). Ainsi, afin de pouvoir mesurer les biomarqueurs plasmatiques d'une manière précise, il nous est impératif de vérifier si ces échantillons obtenus selon l'ancienne méthode sont fiables. Cette question importante ne concerne pas seulement cette sous-étude, mais concerne également tous les autres projets de recherche où des mesures de biomarqueurs plasmatiques sont réalisées à partir des échantillons de la Biobanque. Nous avons donc décidé de concevoir une nouvelle étude dont le but est de vérifier si les échantillons sanguins de la Biobanque obtenus selon l'ancienne méthode sont valides pour les mesures des biomarqueurs plasmatiques d'intérêt pour cette sous-étude et pour les autres projets de recherche en cours: « **L'étude de validation de l'ancienne méthode de**

**collecte, traitement et entreposage des échantillons sanguins de la Biobanque de l'ICM » ou l'étude VALID-ACTION.**

Nous croyons que cette étude de validation permettra une planification plus réaliste et efficace de l'utilisation des ressources de la Biobanque pour nos projets actuels et à venir. Dans le cadre spécifique de cette sous-étude sur des possibles prédicteurs de la présence et de la progression de la SVA, l'étude VALID-ACTION nous permettra de savoir avec certitude si on peut mesurer les biomarqueurs plasmatiques dans le restant de la cohorte de patients, en utilisant éventuellement des analyses complémentaires dans le futur. Elle pourra aussi aider à établir les premières bases pour une réflexion sur le destin des échantillons « ancienne méthode » de la Biobanque.

## **5.1 Objectifs**

### **- Objectif principal**

Vérifier si les échantillons de plasma de la Biobanque collectés selon l'ancienne méthode (caractérisée par des temps différents d'entreposage des échantillons à 4°C entre la collecte du sang du patient et son traitement suivi de l'entreposage à -80°C) sont valides pour la mesure de biomarqueurs plasmatiques d'intérêt pour des études faites à partir de la Biobanque.

### **- Objectif secondaire**

Observer l'effet de différents temps d'entreposage des échantillons sanguins à 4°C avant leur traitement et entreposage final à -80°C, sur la stabilité de plusieurs biomarqueurs plasmatiques.

## **5.2 Description sommaire de l'étude**

Un total de 53 participants a été recruté parmi les employés de l'ICM. Le recrutement a été effectué sur une base volontaire seulement après l'acceptation de participer à l'étude par la signature d'un formulaire de consentement éclairé.

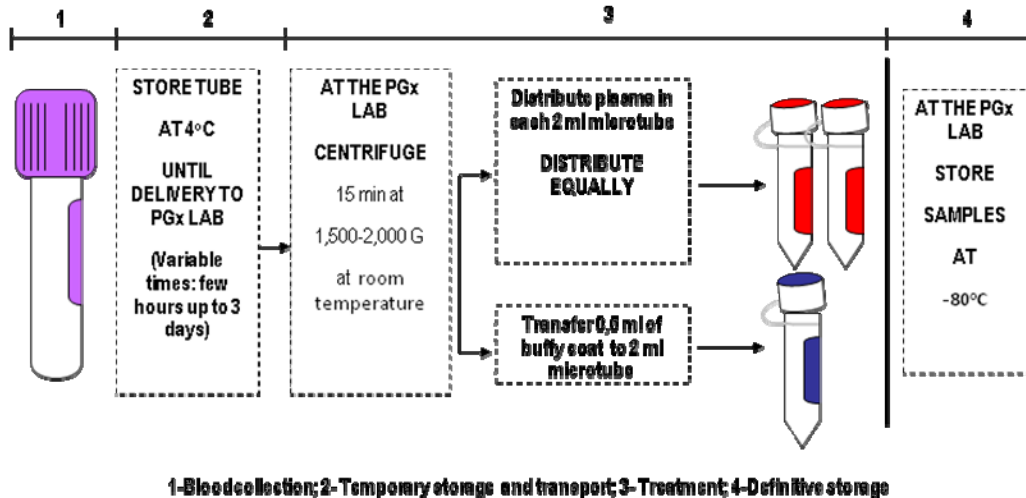
Pour chaque participant, 36 mL de sang sont prélevés en utilisant 4 tubes de 9 mL type *vacutainer* préparés avec EDTA. Un tube est traité selon la méthode actuelle et les 3 autres selon l'ancienne méthode, chacun à un temps différent d'entreposage à 4°C avant le traitement et

entreposage final à -80°C ( $\leq$  4h, 24h et 72h). Les 3 temps d'entreposage à 4°C ont été choisis pour représenter respectivement les intervalles minimum, intermédiaire et maximal du délai entre la collecte et le traitement des échantillons sanguins.

Les biomarqueurs plasmatiques d'intérêt pour les projets de notre groupe réalisés à partir de la Biobanque sont mesurés pour chacun des 4 échantillons de plasma obtenus auprès de chaque volontaire. Les valeurs obtenues pour les échantillons « ancienne méthode » avec les différents temps d'entreposage seront alors comparées à celles obtenues pour les échantillons « méthode actuelle » (contrôle). Nous analyserons également l'effet du temps d'entreposage des spécimens à 4°C avant traitement dans la stabilité des biomarqueurs évalués.

Un résumé du plan de recherche du projet VALID-ACTION pour chacun des 53 participants est présenté dans la Figure 18.

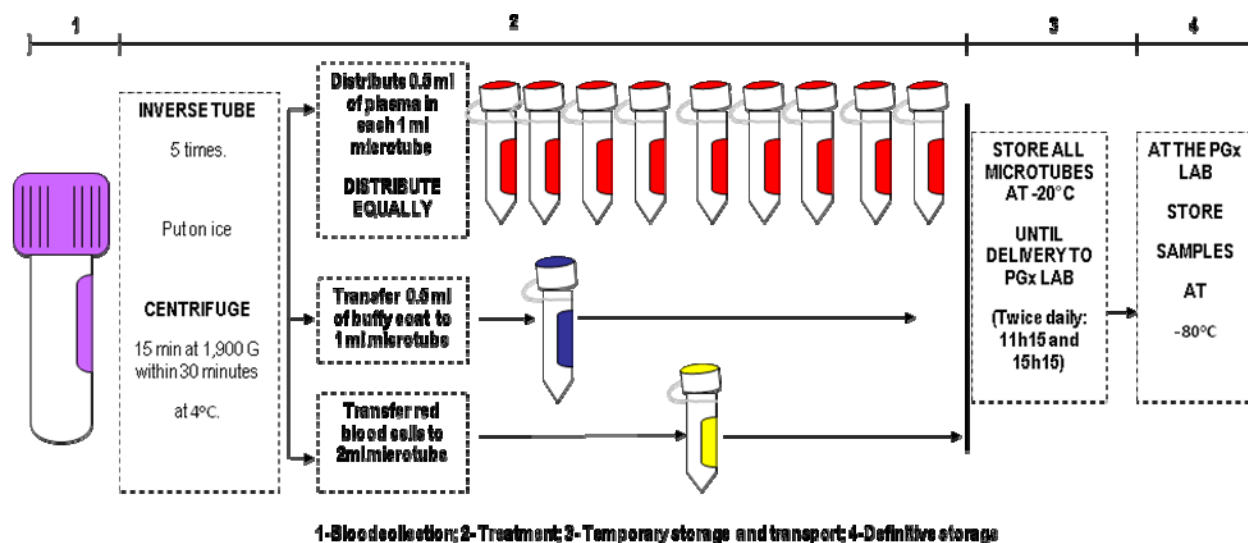
### 5.3 Description schématique des méthodes ancienne et actuelle de collecte, de traitement et d'entreposage des échantillons sanguins de la Biobanque



**Figure 16: Schéma de l'ancienne méthode de collecte, traitement et entreposage des échantillons sanguins de la Bioabanque.**

Basé sur le document « Protocol ID: preparation of buffy coat and plasma » et registres du laboratoire du PgX et de la Biobanque. Schéma développé à partir du schéma présent dans le document « MHI Hospital Cohort; Procedure: Blood collection and processing; last version november 10<sup>th</sup>, 2010 ».

*Store tube at 4°C until delivery to the PGx lab (variable times: few hours up to 3 days):* entreposer le tube à 4°C jusqu'à livraison au laboratoire de pharmacogénomique (temps variables: de quelques heures à 3 jours). *At the PGx Lab, centrifuge 15 minutes at 1500 - 2000G at room temperature:* au laboratoire de pharmacogénomique, centrifuger 15 minutes à 1500 - 2000G à température ambiante. *Distribute plasma in each 2ml microtube – distribute equally:* distribuer le plasma dans chaque microtube de 2ml – distribuer de manière égale. *Transfer 0.5 ml of plasma to 2ml microtube:* transférer 0,5ml de plasma au microtube de 2ml. *At the PGx lab, store samples at -80°C:* au laboratoire de pharmacogénomique, entreposer les échantillons à -80°C. *Blood collection, treatment, temporary storage and transport, definitive storage:* prélèvement du sang, traitement, entreposage temporaire et transport, entreposage définitif.

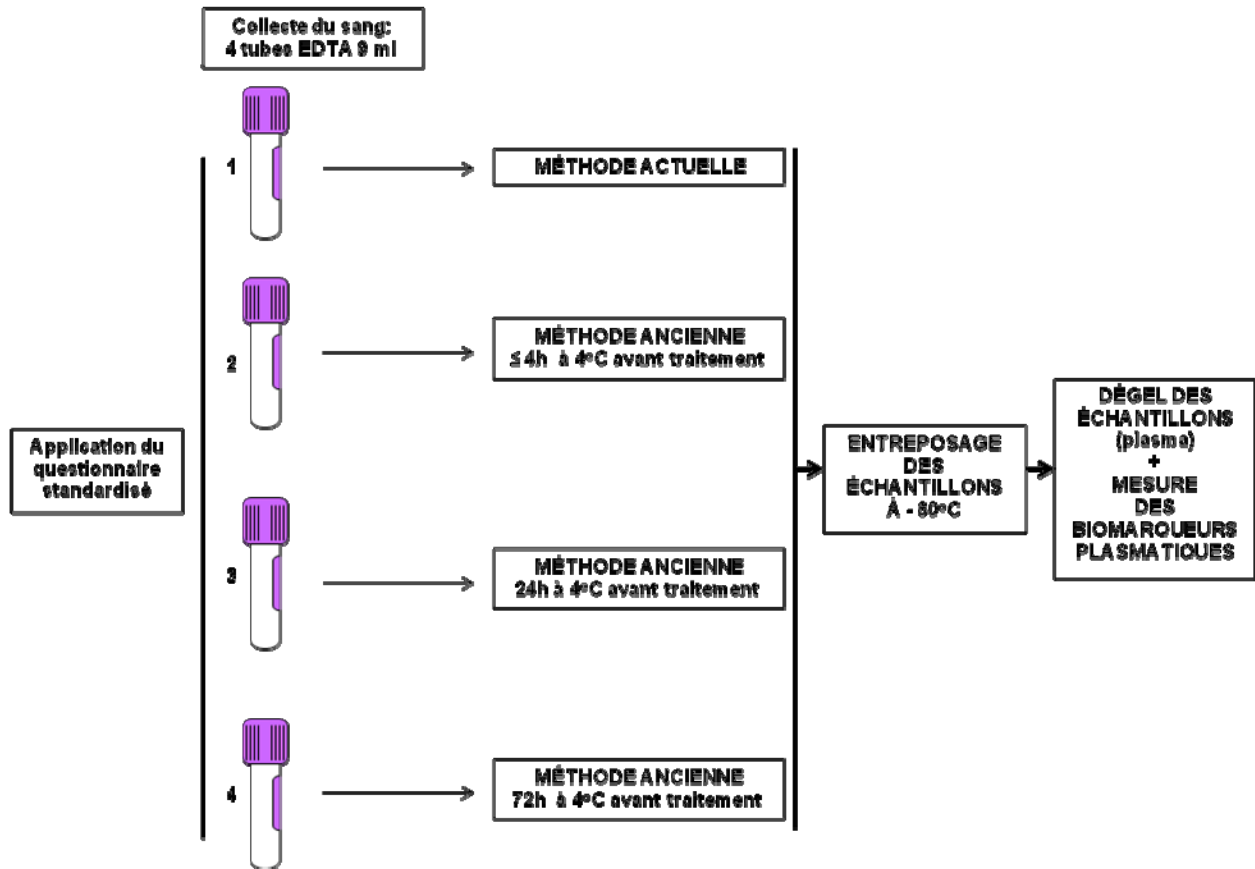


**Figure 17: Schéma de la méthode actuelle de collecte, de traitement et d'entreposage des échantillons sanguins de la Bioabanque.**

Adapté de MHI Hospital Cohort; Procedure: Blood collection and processing; last version november 10<sup>th</sup>, 2010.

*Inverse tube 5 times, put on ice, centrifuge 15 minutes at 1900G within 30 minutes at 4°C:* inverser le tube 5 fois, conserver sur glace, centrifuger pendant 15 minutes à 1900G dans les 30 minutes qui suivent à 4°C. *Distribute 0.5 ml of plasma in each 1 ml microtube – distribute equally, transfer 0.5 ml de buffy-coat to 1ml microtube, transfer red blood cells to 2ml microtube:* distribuer 0,5 ml de plasma dans chaque microtube de 1 ml – distribuer également, transférer 0,5 ml de *buffy-coat* à un microtube de 1ml, transférer les cellules rouges à un microtube de 2ml. *Store all microtubes at -20°C until delivery to the PGx lab - pharmacogenomics laboratory (twice daily: 11h15 and 15h15):* entreposer tous les microtubes à -20°C jusqu'à la livraison au laboratoire de pharmacogénomique (2 fois par jour : 11h15 et 15h15). *At the PGx lab, store samples at -80°C:* au laboratoire de pharmacogénomique, entreposer les échantillons à -80°C. *Blood collection, treatment, temporary storage and transport, definitive storage:* prélèvement du sang, traitement, entreposage temporaire et transport, entreposage définitif.

#### 5.4 Description schématique du plan de recherche de l'étude VALID-ACTION



**Figure 18: Résumé du plan de recherche de l'étude VALID-ACTION pour chacun des 53 participants.**



# Article scientifique

## CONTRIBUTION DE L'ÉTUDIANTE

L'article qui suit comprend la majeure partie de mes travaux de maîtrise. Il décrit les résultats de la première étape de mon projet, soit l'évaluation des données cliniques, échocardiographiques et génétiques quant à leur capacité à prévoir la progression de la SVA (les analyses concernant des biomarqueurs plasmatiques, encore préliminaires, sont détaillées dans le chapitre Résultats Complémentaires). La conception et l'optimisation du protocole et des méthodes, la plus grande partie du recrutement et sélection des patients, la collecte des données, la réalisation de nouvelles mesures échocardiographiques, la compilation et l'analyse des résultats ainsi que la rédaction de l'article ont été effectuées par la première auteure.

Les coauteurs ont principalement contribué à la conception du projet, de son protocole et des analyses ainsi qu'au partage de leurs connaissances. Benoit Arsenault a aidé au recrutement et à la sélection des patients. Il a également contribué au niveau de la compréhension et analyse des données génétiques. David Busseuil m'a épaulée et orientée pendant toutes les phases de la réalisation de l'étude: conception et perfectionnement du protocole, organisation des travaux, des nombreuses présentations et réunions concernant les méthodes et résultats, discussion des résultats et, finalement, la rédaction de cet article, dont il a fait la révision. David Rhainds a inspiré le choix des prédicteurs évalués par l'étude à partir du partage de sa vaste connaissance théorique. Marie-Pierre Dubé a été responsable pour les mesures en génétique. Finalement, les Drs Éric Rhéaume et Jean-Claude Tardif ont dirigé et supervisé mes travaux.

L'article sera soumis prochainement à l'*European Heart Journal*.

## **RESTING HEART RATE AND OTHER PREDICTORS OF AORTIC VALVE STENOSIS PROGRESSION**

Adriana Benjamim de Oliveira<sup>1</sup>, Benoit Arsenault<sup>1</sup>, David Busseuil<sup>1</sup>, David Rhainds<sup>1</sup>, Marie-Pierre Dubé<sup>2</sup>, Eric Rhéaume<sup>1,3</sup>, Jean-Claude Tardif<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Montreal Heart Institute, Montreal, Quebec, Canada

<sup>2</sup> Pharmacogenomics Center, Montreal Heart Institute, Montreal, Quebec, Canada

<sup>3</sup> Montreal Heart Institute, Department of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada

Correspondence:

Dr. Jean-Claude Tardif

Montreal Heart Institute

5000 Belanger Street

Montreal, Quebec, Canada

HIT 1C8

Phone: 514-376-3330 ext. 3612/ Fax: 514-593-2500

## ABSTRACT

**Introduction:** The identification of biomarkers to predict the progression of aortic valve stenosis (AVS) may help in the prognosis of this disease and also further our understanding of its pathogenesis. We therefore evaluated potential predictors of the progression of degenerative AVS on tricuspid valve.

**Methods:** We identified 126 patients with AVS and at least 2 echocardiograms post-recruitment in our cohort derived from the Montreal Heart Institute Biobank. We collected genetic data and baseline clinical and echocardiographic data. The AVS evolution was assessed by the analysis of the serial echocardiograms and defined as the mean variation per year of the following parameters: maximal aortic transvalvular velocity, mean aortic transvalvular gradient (MATG), aortic valve area and indexed aortic valve area. We evaluated the association of clinical, echocardiographic and LPA rs10455872 risk allele data with the AVS progression.

**Results:** The mean follow-up was 2.4 years. According to multivariate analysis, a higher heart rate (for older patients and males), presence of diabetes mellitus (for males) and a greater MATG in the first echocardiogram were associated to a faster AVS evolution. The presence of aortic regurgitation in the first echocardiogram was associated to a slower AVS evolution. No significant association was found between the presence of LPA risk allele and AVS progression.

**Conclusion:** Our results indicate that a higher heart rate, diabetes mellitus, and a greater MATG are associated with faster AVS progression and may suggest an important role for these alleged predictors in the pathophysiology of the disease. The results of this study should contribute to a more personalized approach of the AVS follow-up and treatment.

**Keywords:** Aortic valve stenosis, biomarkers, diabetes mellitus, heart rate, mean aortic transvalvular gradient, aortic regurgitation

## INTRODUCTION

Aortic valve stenosis (AVS) is the most frequent valvular disease in the adult population<sup>1</sup> and the main valvular disease in the industrialized countries.<sup>2</sup> Two to five percent of older adults will have significant AVS, a proportion that rises to 13% among 75-83 year-old individuals.<sup>3</sup> The only therapeutic approach for AVS is the aortic valve replacement (AVR), classically done surgically and, more recently, percutaneously.<sup>4</sup>

AVS is a slowly progressive disease characterized by increased aortic valve cusps rigidity due to fibrosis and calcification leading to a significant obstruction of blood flow from the left ventricle (LV) to the aorta.<sup>5</sup> Recent data support the hypothesis that AVS is an active physiopathological process, with identifiable initiation factors and clinical risk factors, implicating lipidic, inflammatory and phosphocalcic components at molecular and cellular levels.<sup>6</sup>

After diagnosis, patients with AVS may be asymptomatic for several years.<sup>7</sup> As there is no demonstrated medical treatment available to prevent or slow the disease's progression, the medical follow-up is focused on repeated echocardiographic examinations and education of the patient about AVS symptoms (angina, syncope, dyspnea).<sup>4</sup> In the absence of new or progressive symptoms, it is proposed that routine evaluation occurs every 6 to 12 months for patients with severe AVS, every 1 to 2 years for patients with moderate AVS and every 3 to 5 years for patients with mild AVS.<sup>8</sup>

However, a marked individual variability in the rate of hemodynamic progression of AVS has been observed.<sup>2</sup> It would be useful to identify biomarkers that can predict the rate of AVS progression for a patient in order to individualize his medical follow-up and management. These predictors could consist in clinical or genetic characteristics, echocardiographic parameters or serum biomarkers.

The first data about the AVS hemodynamic progression with time were obtained early on from studies with a small number of patients when cardiac catheterization was the only test available to evaluate AVS severity.<sup>2</sup> The availability of echocardiography to evaluate hemodynamic status has allowed larger and more detailed studies on AVS progression.<sup>9-17</sup> Recent prospective clinical trials designed to verify the effect of statin therapy in the evolution of AVS have added additional information concerning the disease's hemodynamic progression.<sup>18-21</sup>

These studies have tried not only to establish the rate of AVS hemodynamic evolution, but also to analyze possible predictors of this progression.<sup>2</sup>

AVS progression is usually defined as the variation per year of one or more of the important echocardiographic parameters for AVS: maximal aortic transvalvular velocity, mean aortic transvalvular gradient and aortic valve area.<sup>22</sup> Clinical and echocardiographic characteristics have been associated with the progression of AVS, such as: age<sup>17</sup>, gender<sup>12,23</sup>, coronary artery disease (CAD)<sup>17</sup>, diabetes mellitus (DM)<sup>15,24</sup>, metabolic syndrome<sup>25</sup>, renal insufficiency<sup>12</sup>, high cholesterol levels<sup>14</sup>, smoking<sup>13</sup>, use of angiotensin converter enzyme inhibitors (ACEIs)<sup>26,27</sup> or angiotensin receptors blockers (ARBs)<sup>27</sup>, statin use<sup>18-21</sup>, left ventricle ejection fraction<sup>10</sup>, left ventricle hypertrophy<sup>11</sup> and aortic valve calcification level<sup>16,17</sup>.

However, a remarkable variation between the AVS echocardiographic progression levels was observed among these studies<sup>2</sup> and, sometimes, contradictory results were obtained with the same predictor. For example, both male<sup>12</sup> and female<sup>23</sup> genders have been associated with faster AVS progression. Moreover, many studies analyzed together AVS cases from the 3 most common etiologies (degenerative AVS on tricuspid valve, congenital AVS on bicuspid valve and rheumatismal AVS), which have differences in their physiopathology and may differ in their progression rates.<sup>28</sup> Finally, description of the population ethnicity is rare in these studies, although differences in the ethnical origins may have an effect on AVS evolution.<sup>23,29</sup>

Several studies assessed possible genetic polymorphisms implicated in the development of AVS<sup>35,36</sup>, but, to our knowledge, only the study by Moura and coll evaluated the relation of a genetic polymorphism (the PON1 Q192R SNP) with AVS progression.<sup>34</sup> As was the case for PON1 activity levels, the presence of the risk allele (R) in Q192R SNP of PON1 gene was associated with a greater increase (23%) in AVS progression, however the number of patients in the study was small.

The clinical use of biomarkers to predict the evolution of AVS is therefore not yet validated. Data are scarce and sometimes confusing.<sup>2</sup> This study aimed to evaluate potential clinical, echocardiographic and genetic predictors of AVS evolution in an ethnically homogenous population of patients with degenerative AVS on tricuspid valve.

## **METHODS**

### **Population**

The study protocol was approved by the Montreal Heart Institute (MHI)'s scientific and ethical committee and by the MHI Biobank cohort <sup>37</sup> management committee. Our subpopulation was selected from a main study cohort, the “Molecular and genetic aspects of the aortic valve stenosis” – SVAGEM study, whose patients were all selected from the MHI's Biobank.<sup>37,38</sup> The main study included 405 patients with degenerative AVS on tricuspid valve (cases) and 415 patients without AVS (controls) paired to the cases by specific clinical characteristics (age, gender, previous and current smoking, CAD, dyslipidemia, statin use as previously described.<sup>37,38</sup> In the main study, presence of AVS was defined by a maximal aortic transvalvular velocity  $\geq 2.5$  m/s and absence of AVS by a maximal aortic transvalvular velocity  $< 1.7$  m/s at the baseline echocardiography. In order to have homogeneous phenotypes, all cases with bicuspid, rheumatismal or post-radiation AVS were excluded. Both potential cases and controls with significant metabolic or inflammatory diseases as renal insufficiency (creatinin  $\geq 200$   $\mu\text{mol/L}$ ), Paget's disease of the bones, hyperparathyroidism and systemic lupus erythematosus were also excluded. Potential controls with diagnosis of aortic sclerosis (maximal aortic transvalvular velocity  $\geq 1.7$  m/s and  $< 2.5$  m/s) were also excluded.<sup>37,38</sup>

For this substudy, we identified all AVS patients from the main study who had at least two echocardiographic measurements separated by a minimal interval of 6 months. A total of 126 patients were selected.

### **Demographic and clinical data**

The demographic and clinical data were collected by the MHI Biobank with the use of a digitalized standard questionnaire and were anonymized before being transferred to the research team. The morphological measurements (height, weight, hip girth, waist girth) and vital signs (blood pressure, resting heart rate) were assessed by the personnel of the MHI Biobank. We also analyzed demographic and clinical parameters related to cardiovascular risk factors whose relation with AVS presence or progression had already been suggested, as well as conditions

that could eventually have an effect on AVS progression (such as a specific medication). These included age, gender, smoking history, hypertension, DM, CAD, stroke and medications in use. History of CAD was considered in the presence of previous myocardial infarction, coronary angioplasty or coronary bypass. From height and weight data, body mass index (BMI) and body mass surface (BSA) were calculated by the standard formula<sup>39</sup> and the formula of Dubois and Dubois<sup>40</sup>, respectively.

## **Echocardiographic data**

The baseline and most recent echocardiographic data were collected from consultation of the echocardiographic reports contained in the medical files. All reports were digitalized in order to allow the independent verification of the data by a second researcher and avoid collection errors.

The standard echocardiographic measurements were done accordingly to the international guidelines<sup>22,41</sup> by the team of the MHI's echocardiography laboratory at the time of the exam using Vivid 7 Dimension system (GE Healthcare Ultrasound, Horten, Vestfold, Norway) and were described in the echocardiographic reports.

The echocardiographic data collected included measurements related to AVS severity (maximal aortic transvalvular velocity, maximal aortic transvalvular gradient, mean aortic transvalvular gradient (MATG), aortic valve area (AVA) and indexed AVA defined as the ratio AVA/BSA), LV structure and function (cavity's size and walls' thickness, indexed mass, ejection fraction, diastolic function), coexistent LV diseases (aortic and mitral regurgitation, mitral stenosis) and other cardiac or vascular regions potentially affected by the AVS (left atrium size and volume, aortic root and ascending aorta diameters).

Additional measurements in the baseline echocardiograms were performed in order to evaluate aorta's elasticity and the baseline level of aortic valve calcification. Aorta's elasticity was evaluated by the measurement of the aortic strain index.<sup>42</sup> Aortic valve calcification level was evaluated in two different ways: first, in a subjective way, using the criteria proposed by Rosenhek *et al*<sup>16</sup> and largely validated by the literature; second, in a more objective and semi-quantitative way, where aortic valve calcification area is indexed to valve ring area. The aim was to estimate more objectively the amount of calcium in the aortic valve of each patient by indexation to his own aortic valve ring area. All these additional measurements were performed

with the same system used to do the baseline echocardiographies from images stored in the MHI's digital image bank.

## **Genetic data**

For the main genetic study, DNA samples were encoded by the MHI Biobank before being transferred to the research team and were genotyped using two genetic arrays: the Infinium HumanExome Beadchip and the Cardio-MetaboChip (Illumina, CA, USA).<sup>37,38</sup> For the current sub-study, we tested the association of AVS progression with one genetic polymorphism highlighted by preliminary analysis of the main study (the SNP rs10455872 of the lipoprotein (a) gene - LPA) and recently demonstrated to be associated with the presence and incidence of aortic valve calcification.<sup>36,38</sup>

## **Statistical analysis**

AVS progression was defined as the difference between time points for the echocardiographic parameter of interest normalized by the time interval between the two echocardiographic assessments (rate of change per year):

$$(\text{Value}_{\text{last echo}} - \text{value}_{\text{first echo}}) / \text{time in years between the 2 echos}$$

The main measures of AVS severity were the following: maximal aortic transvalvular velocity, MATG, AVA and indexed AVA. The variation per year of these 4 parameters constituted the dependant variables (all continuous) evaluated in the univariate and multivariate analysis.

### *Univariate analysis*

For the univariate analysis, we verified if there was an association between each dependent variable and each independent variable (clinical, echocardiographic and genetic data) using the adequate statistical test according to the nature of the independent variables and data distribution: Student t-test or Wilcoxon test if the independent variable was dichotomic; analysis of variance –



ANOVA or Kruskal-Wallis test if the independent variable had several categories; Pearson or Spearman correlation if the independent variable was continuous.

Data distribution (normal or abnormal) for the continuous variables was verified by the Kolmogorov-Smirnov test. A significance level of 0.05 was adopted.

### *Multivariate analysis*

For the multivariate analysis, the dependent variables were the same 4 described above; a multivariate model was calculated for each of them by linear regression. Were considered as candidates to the multivariate models: all independent variables (discrete and continuous) significantly correlated to the 4 dependant variables in the univariate analysis ( $p < 0.05$ ); independent variables whose associations with the dependent variables were not significant but with a  $p < 0.2$  were also added. When the candidate continuous variables were not normally distributed, a natural logarithm transformation was performed or the extreme observations were suppressed. Independent variables where numerous observations were missing ( $> 12\%$ ) were not considered as candidate variables to the multivariate models even if they had a significant association with the dependent variables in the univariate analysis.

The multicollinearity phenomenon in the models was assessed by the variance inflation factor (VIF). A VIF higher than 10 suggests a strong correlation between two independent variables. If two independent variables had a  $VIF > 10$  during model construction, one of them was excluded.

Age and sex (independent variables for which the adjustment of the models is important in order to avoid confounding bias) were included, as well as the baseline value for each interesting echocardiographic parameter, even if these independent variables had not gotten a  $p < 0.2$ . Except for variables described above, a significance level of 0.05 at the linear regression for the  $\beta$  regression coefficient of the independent variables was necessary to keep them in the model.

After definition of the 4 multivariate models, they were tested for the presence of significant interaction between the independent variables. For each model, the first part of the test was executed as follows: 1) a new variable (interaction term) formed by the product of the 2 independent variables involved in the interaction to test was created; 2) this new variable was individually included (just one interaction term at a time) in the original multivariate model to

verify if its  $\beta$  regression coefficient was significant at the 0.05 level. The second part of the test consisted in a stepwise selection including all the interaction terms found significant at first in order to create a single new multivariate model. A significance level of 0.05 at the stepwise process for the  $\beta$  regression coefficient of the interaction terms was necessary to keep them in the new model.

Finally, to assess the real effect on the dependent variables of the independent variables still involved in significant interactions at the new multivariate model, their  $\beta$  coefficients were calculated and analyzed separately for each category (dichotomic variables) or quartile values (continuous variables) of the other independent variables involved in the interaction. For example, if an independent variable had an interaction with sex, its  $\beta$  would be calculated and analyzed separately for males and females. Similarly, for an independent variable involved in an interaction with age, its  $\beta$  would be calculated and analyzed separately for the quartile 1, median and quartile 3 values for age.

Due to the exploratory nature of the proposed analyses, the p values were not adjusted for multiple comparisons. All statistical analysis were performed with the SAS package (SAS Institute, Cary, NC).

## RESULTS

### **Clinical, genetic and echocardiographic baseline characteristics of the population**

A description of the clinical and genetic baseline data is available in Table 1. The population studied was of masculine predominance (65.1%), old age (mean 73.5 years old) and ethnically homogenous (100% Caucasians, 84% French Canadians). The prevalence of atherosclerotic risk factors was high, with 46-80% patients having a history of smoking, dyslipidemia, hypertension or concomitant CAD. The population was constituted of overweight people (mean BMI 29.0 kg/m<sup>2</sup>), with a high percentage (64.3%) of abnormal waist girth (>102 cm for men, >88 cm for women). About 1/4 of the group was submitted to AVR at the end of the follow-up. In relation to the analyzed genetic polymorphism, 18.0% of the population presented the risk allele (G) of the LPA SNP rs10455872.

Echocardiographic baseline data are summarized in Table 2. AVS severity was predominantly moderate at the beginning of the follow-up period (54%). LV end-diastolic diameter (mean 47.5 mm) and ejection fraction (mean 58.2%) were normal. However, the LV relative wall thickness (RWT) was elevated (0.47) and LV concentric remodeling was found in almost 60% of the individuals. Not surprisingly, 90% of the individuals for which the description of the diastolic function was available (85 patients - 62% of the population) had diastolic dysfunction (predominantly mild). Other concomitant valvular conditions (aortic regurgitation (AR): 76.2%; mitral regurgitation: 80.9%) were present in most of the patients (also predominantly mild). Finally, aortic valve calcification could be seen in almost all individuals at baseline (95%), with about 84% between stages 2 and 3 of the Rosenhek score.<sup>16</sup>

### **Echocardiographic evolution of AVS**

The mean follow-up time was 2.4 years. The echocardiographic evolution of AVS for the population in this period, expressed by the annualized variation of the 4 echocardiographic parameters of interest (maximal aortic transvalvular velocity, MATG, AVA and indexed AVA) is described in Table 3.

## **Association of clinical, genetic and echocardiographic data with the progression of AVS**

### *Univariate analysis*

The associations of baseline clinical, genetic and echocardiographic data with the progression of AVS are summarized in Tables 4 and 5.

Regarding the clinical data, age did not show a significant univariate association to the progression of AVS considering the variation per year of any of the 4 echocardiographic parameters of interest. Female gender was associated with an increased variation/year of the maximal aortic transvalvular velocity (MaxVel\_N) and MATG (MeanGrad\_N), while height had a negative association with these 2 latter variables. Elevated heart rate was significantly associated with an increased AVS progression. Similarly, the presence of DM was strongly associated with an increase in the AVS progression in regards to the 4 parameters of interest. Other metabolic variables did not reach statistical significance, with a fair tendency to an association with higher MaxVel\_N and MeanGrad\_N for the presence of abnormal waist girth and to an association with a greater diminution per year of AVA and indexed AVA for the presence of dyslipidemia.

The use of statins was associated with an increase in the AVS progression in relation to the variation/year of the AVA (Area\_N) and indexed AVA (AreaInd\_N). Also,  $\beta$ -blockers showed a significant association with AVS progression concerning at least one of the 4 parameters of interest (decrease in MaxVel\_N). There was no significant association between the genetic polymorphism of the LPA gene evaluated (allele G of SNP rs10455872) and the progression of AVS in any of the 4 parameters of interest.

Regarding the echocardiographic data (Table 5), baseline values of maximal aortic transvalvular velocity, maximal aortic transvalvular gradient and MATG were associated with an increase in AVS progression for the 4 parameters of interest. Baseline values of AVA and indexed AVA were negatively correlated with MaxVel\_N and MeanGrad\_N, but there was no association with Area\_N and AreaInd\_N. In a similar way, the baseline classification of AVS severity showed a positive correlation with MaxVel\_N and MeanGrad\_N, but no significant effects on Area\_N and AreaInd\_N.

In relation to the LV structure, LV diastolic diameter had a negative correlation with AVS progression, while LV thickness (expressed by the relative wall thickness and presence of

concentric remodeling) was associated with an increase in AVS evolution, especially regarding the variation of area-related parameters. Variables related to the aorta diameter were negatively correlated with AVS progression (as expressed by MaxVel\_N and MeanGrad\_N). Surprisingly, presence of AR was associated with less AVS progression concerning Area\_N and AreaInd\_N.

Aortic valve index, expressing aortic root elasticity, did not show significant associations with AVS evolution. On the other hand, the method proposed in this study for a semi quantitative evaluation of the aortic valve calcification (aortic valve calcification area/aortic valve ring area index) was strongly associated with the AVS increase as expressed by MaxVel\_N and MeanGrad\_N. Similar results were found when considering the subjective evaluation of the aortic valve calcification by the score proposed by Rosenhek.<sup>16</sup>

### *Multivariate analysis*

Values and directions of the associations between the significant independent variables and the AVS progression are described graphically for each multivariate model in order to facilitate their visualisation and comprehension: MaxVel\_N (Figure 1), Meangrad\_N (Figure 2), Area\_N (Figure 3) and AreaInd\_N (Figure 4). Data concerning the variables forcedly included in the models (age, sex and baseline value of each interesting echocardiographic parameter) are not shown.

Using multivariate analysis, resting heart rate, presence of DM, baseline MATG, use of statins and presence of AR in the baseline echocardiography were still significantly associated to AVS evolution in at least 2 of the 4 multivariate models corresponding to each progression parameter. Except for the baseline MATG (significant in all 4 models), the baseline values for each interesting echocardiographic parameter, forcedly included in the model corresponding to the variation/year of its specific parameter, were associated to the AVS progression only in their model, as expected.

Elevated heart rate, presence of DM, a higher baseline MATG and, surprisingly, the use of statins were associated to a faster progression of AVS. Interestingly, the presence of AR in the first echocardiographic examination was associated to a slower progression of AVS.

## Analysis of interaction terms

The impact of the interaction terms on the multivariate associations with AVS progression is detailed for each model in tables 6 (MaxVel\_N), 7 (MeanGrad\_N), 8 (Area\_N) e 9 (AreaInd\_N). The original models are shown alongside the models containing the interaction terms and the new  $\beta$  regression coefficients of the independent variables that were significantly associated with the AVS progression in the original models and are involved in interactions in the new models are analyzed separately according to the values of the other independent variables that constitute the interactions.

The tests for interaction terms demonstrated that DM had a significant interaction with sex in all 3 models where it was significantly associated with AVS progression (MaxVel\_N, MeanGrad\_N and AreaInd\_N), indicating that its effect should be analyzed separately for males and females. The presence of DM was indeed significantly associated with a faster progression of AVS among males, but it had no significant effect on the AVS progression for females, even if there was no significant difference in the proportion of patients with DM between males and females (25% vs. 31% respectively,  $p=0.45$ ). A similar result (significant association with faster progression of AVS for males and no impact for females) was observed for the resting heart rate (HR) in one model (MeanGrad\_N), the interaction Sex\*HR being non-significant in the other models where resting heart rate was significantly associated with faster AVS progression (Area\_N and AreaInd\_N). Interestingly, the mean HR was slightly higher for the females ( $68.2 \pm 8.7$  vs.  $65.1 \pm 7.5$  beats per minute (bpm),  $p=0.048$ ).

A significant interaction between HR and age was also detected, this time in all 3 models where higher HR was significantly associated with faster AVS progression (MeanGrad\_N, Area\_N and AreaInd\_N). It was demonstrated that HR had no significant effect on AVS progression for the younger patients ( $<$  median: 74 years), but was still significantly associated with a faster AVS progression in the older patients ( $\geq$  median: 74 years).

No significant interaction was found involving the remaining independent variables associated with faster (baseline MATG and use of statins) and slower (presence of AR) AVS progression. Therefore, their effect on the dependent variables was not modified in the new multivariate models and remains significant for the whole sample.

## DISCUSSION

In this study, we determined the rate of progression of AVS in an ethnically homogenous population with degenerative AVS on tricuspid valve. We evaluated several clinical and echocardiographic characteristics and one genetic polymorphism on their capacity to predict AVS evolution in this specific population. After multivariate analysis, we identified 5 independent predictors of AVS progression: resting heart rate, presence of DM, baseline MATG, statin use and AR. Significant interactions were subsequently found for resting heart rate (with age and sex) and presence of DM (with sex), limiting their predicting power of AVS progression to a subset of the population (older patients and males for resting heart rate; males for DM).

### **Higher resting heart rate is associated with faster AVS progression for older patients and males**

To the best of our knowledge, this is the first study identifying resting heart rate as an independent predictor of AVS progression: a higher resting heart rate could indicate a faster AVS progression. In agreement with this observation, it was recently demonstrated that heart rate (HR), along with six other criteria, composed a new seven multivariate model found to accurately predict death risk in patients with mild to moderate AVS in the SEAS study.<sup>43</sup>

Although the beta value from the multivariate analysis for resting heart rate may appear smaller than that for other significant predictors, it may help to remind that the beta value represents the level of change in the dependent variable when the independent variable increases of one unit. For example, according to the initial multivariate model (without interactions) for MeanGrad\_N (which represents the global behavior of our population regarding this variable), if DM (a dichotomic variable) is present, MeanGrad\_N will increase  $(3.88 \times (1))$  3.9 mmHg/y. Similarly, for an HR (a continuous variable) that would be 25 BPM higher, MeanGrad\_N would increase  $(0.16 \times 25)$  4.0 mmHg/y.

At least two mechanistic explanations for the AVS progression predicting power observed for resting HR can be put forward. First, somewhat related to the “wear and tear” hypothesis<sup>1</sup>, a higher resting heart rate could induce an increase of mechanical shear stress to the aortic valve and alteration of valvular endothelium integrity.<sup>6,44</sup> Hypertension-related tachycardia has been demonstrated to alter the levels of aortic shear stress<sup>45</sup>, which has been implicated in aortic valve

endothelial cell changes of gene expression, function and viability.<sup>46</sup> Also, multiple *ex vivo* and *in vitro* studies have shown that the pathological stretching of valve tissue or isolated valve interstitial cells (VICs) may elicit responses associated with valve disease development, especially increased matrix synthesis and remodeling and VIC activation to the secretor myofibroblast phenotype.<sup>47</sup>

Second, it has been demonstrated that AVS patients have a symptovagal imbalance, characterized by disturbances in heart rate variability and turbulence, both in the set of severe AVS<sup>48</sup> and mild-to-moderate AVS.<sup>49</sup> It has been hypothesized that autonomic dysfunction *per se* could be involved in the development of aortic valve calcification. This proposition was based on two lines of evidence: the similarities between aortic valve calcification and medial arterial calcification, a condition in which autonomic dysfunction is implicated; and the similarities between the changes caused by autonomic denervation and those of natural aging in the aortic valve. Autonomic denervation leads to withdrawal of neurotrophic influences from cells and tissues. The resulting changes in structure and function could give rise to a condition of tissue vulnerability allowing other stresses, such as haemodynamic trauma, to ultimately stimulate calcification.<sup>50</sup>

It may also be possible that a higher resting heart rate in the context of AVS could be a concomitant condition rather than a cause. Studies have shown that angiotensin II may contribute to the increase of heart rate.<sup>71-73</sup> In addition to its direct angiotensin II type I receptor (AT-1) mediated actions on cardiac myocytes (specially in the conduction system), angiotensin II exerts an indirect positive chronotropic and proarrhythmic effect by enhancing sympathetic activity and suppressing vagal activity.<sup>73</sup> The higher heart rate could then be due to the up-regulation of the renin-angiotensin system previously observed in AVS<sup>44</sup> which ultimately would lead to a faster AVS progression. Moreover, in the present study, the use of  $\beta$ -blockers was associated with a smaller increase per year of the maximal aortic transvalvular velocity in the univariate analysis, but it had no influence on the other AVS progression parameters and did not persist in the multivariate analysis. Other assessed rate-control-drugs (non-dihydropyridine calcium channel blocker and antiarrhythmics) did not show any association with AVS progression (data not shown). This may imply that an intervention to control heart rate has no protective effect on the AVS progression, considering this predictor more as a circumstance marker than as a causal marker of AVS evolution.



A significant interaction was found between age and HR in the present study, implicating that a higher resting heart rate could predict a faster AVS progression but only in the older segment of the population. This phenomenon was observed in all 3 multivariate models where HR was a significant predictor of AVS progression, regarding the variation/year of different echocardiographic parameters (mean aortic transvalvular gradient, aortic valve area and indexed aortic valve area). Therefore, it seems to be a consistent finding, for which some causes could be speculated. Important changes occur in the cardiovascular system with advancing age, even in apparently healthy individuals.<sup>63</sup> Some of these changes might accentuate those physiopathologic processes possibly related to the association between a higher HR and a faster AVS progression discussed above, favoring a stronger relation between the 2 variables in older patients. For example, it has been shown that aging is associated with a reduced endothelial dependent vasodilation, thought to be secondary to reduced nitric oxide (NO) production.<sup>64</sup> Such impaired function of valvular endothelium could make it more fragile and more susceptible to a disruption of its integrity generated by the increase of shear stress at the aortic valve level which would be promoted by a higher HR. Similarly, the sympathovagal imbalance observed in AVS patients<sup>48,49</sup> could add up to the disturbances in the sympathetic modulation noted with advancing age<sup>63</sup> to generate increased autonomic dysfunction and a potentially higher contribution to aortic valve calcification. Finally, it was suggested above that a higher heart rate could be more of a concomitant condition than a causal factor in the AVS setting and that it might be due to the up-regulation of the renin-angiotensin system observed in AVS.<sup>44</sup> The effect of the renin-angiotensin system in the AVS progression could be intensified with aging as there could be as much as a 1000-fold increase in angiotensin II levels and signaling in aged arterial walls<sup>65</sup>, a mechanism that might be present or similar also in the aortic valve. As a consequence, an up-regulated renin-angiotensin system would be "more efficient" in promoting AVS progression among the elderly, and it could appear that the higher HR determined by this up-regulation had a stronger association with AVS progression.

Another significant interaction was noted between sex and HR, indicating that a higher HR could be a predictor of faster AVS only for males. This finding was present in only one multivariate model (MeanGrad\_N), raising the possibility that it might have been originated just by chance (type I error), given the numerous interaction tests performed for this model. Alternatively, an association between male gender and faster AVS progression has been

described<sup>12,29</sup>, and a higher degree of valvular calcification was found among men in the context of AVS.<sup>66</sup> It could be possible that this higher level of calcium in the aortic valve or other phenotypes may be more related to male AVS patients and a mechanism not yet described might favor the effect of a higher HR in the progression of AVS, making the association of the 2 variables significant just for men.

Regardless of the physiopathology behind the predicting effect of heart rate on AVS progression and the restriction of this effect to specific groups by the presence of interactions, it is an exciting finding as this is an easy and accessible measurement. Surely, other epidemiologic studies, preferentially prospective, are needed to confirm this observation. The finding of heart rate as an independent predictor of AVS progression might open promising perspectives in the personalization of AVS patient's follow-up and the pursuit of new treatment horizons.

### **Diabetes mellitus is associated with faster AVS progression for males**

We observed an independent association of DM with a faster AVS evolution for 3 different echocardiographic parameters of AVS progression: variation per year of maximal aortic transvalvular velocity, MATG and indexed AVA; this later parameter suggests, for the first time, that the capacity of DM to predict a faster AVS evolution is not influenced by body size. For the 3 multivariate models, an interaction between Sex and DM was noted, indicating that the presence of DM could predict faster AVS progression just among males.

DM has been associated with the presence of AVS by several studies<sup>5</sup> and potential mechanisms have been proposed to elucidate these associations, especially in relation to aortic valve calcification. First, bone morphogenic protein 2 (BMP2), a key osteogenic regulatory factor upregulated by hyperglycemia *in vitro*<sup>51</sup>, was demonstrated to play a role in vascular calcification and was detected in areas of valvular calcification.<sup>52</sup> Second, DM is characterized by a pro-oxidant state with generation of reactive oxygen species (ROS), such as hydrogen peroxide and superoxide.<sup>53</sup> Oxidized low density lipoproteins are present in human stenotic aortic valves and have been shown to increase calcium nodule formation in valvular cells, *in vitro*.<sup>52</sup> Furthermore, osteogenic signaling cascades induced by intracellular ROS in vascular smooth muscle cells and in vascular myofibroblasts are also active in calcifying aortic valve cells.<sup>54</sup>

Only two studies in the literature analyzed the relation of DM *versus* AVS progression. In a retrospective study involving old patients with mild baseline AVS, Aronow *et al* showed for the first time an independent association of DM with the progression of AVS (characterized by the rate of change/year of maximal aortic transvalvular gradient).<sup>15</sup> Similarly, Kamalesh *et al*, demonstrated a higher progression of AVS (defined as the variation/year of AVA) among DM patients *versus* non-DM patients in individuals with moderate baseline AVS.<sup>24</sup> Neither study mentioned the population ethnical distribution or the AVS etiologies.

The Sex\*DM interaction (indicating that DM is a significant predictor of faster AVS progression only for males) was observed in all 3 multivariate models where DM was significantly associated with a faster AVS progression, which suggests that this should be a consistent finding. It is hard to hypothesize why DM would be a significant predictor of faster AVS progression more for men than women as few studies to date have focused on sex differences in the general behavior of DM <sup>67</sup> and, concerning just the DM effect on AVS progression, the data about sex differences are even more scarce. Of the only 2 other studies dedicated to the analysis of DM as a predictor of AVS progression, one study (Kamalesh *et al.*, 2009) had an almost exclusively men sample, being recognized by the authors that this was a limitation of the study and that caution was advised to extrapolate its results for women.<sup>24</sup>

It could be speculated that the tendency of men to accumulate more visceral adipose tissue (VAT) rather than subcutaneous adipose tissue (SAT) compared to women <sup>68</sup> might have a role in the different effects of DM on AVS progression observed between the genders in the present study. VAT and SAT differ in their sensitivity to insulin, sex hormones and adrenergic stimulation.<sup>69</sup> For a same body mass index, men are often more insulin resistant due to their tendency to the accumulation of VAT. <sup>68</sup> Visceral adipocytes have a higher tendency toward lipolysis due to lower sensitivity to insulin's effect and higher expression of glucocorticoid receptors. Compared to SAT, VAT thereby releases more free fatty acids; it also produces inflammatory cytokines such as tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ). These substances are transported via the portal vein to the liver, where they induce hepatic insulin resistance and atherogenic lipid profile.<sup>70</sup> This proinflammatory and atherogenic environment might then contribute to a faster AVS progression in diabetic men than in diabetic women. However, due to the shortage of scientific evidence on the matter presented before, this hypothesis is speculative

and further evaluation is warranted in studies specifically designed to evaluate AVS progression *versus* sex differences in the diabetic population.

Our study and the others mentioned above suggest that the presence of DM is an important factor to consider in the assessment of a patient's risk of AVS progression. According to the European Society of Cardiology Guidelines on diabetes, pre-diabetes and cardiovascular diseases, glycated hemoglobin (HbA<sub>1c</sub>), fasting plasma glucose and post-prandial glucose target levels ( $\leq 7\%$ ,  $\leq 7.2$  mmol/L and  $\leq 9-10$  mmol/L, respectively) are recommended for DM patients and have been shown to reduce microvascular (e.g. renal) and macrovascular (e.g. coronary) diseases.<sup>55</sup> It would be reasonable to suggest that prospective observational studies, having in mind potential gender differences, could be designed to try to establish risk ranges of the same markers for the AVS progression in DM patients, leading the way to clinical trials where the optimized control of glucose levels could be tested as a therapeutic approach to avoid or reduce AVS progression.

### **Higher baseline mean aortic transvalvular gradient is associated with faster AVS progression**

In the present study, a higher baseline MATG was independently associated with a faster AVS progression by 3 different echocardiographic parameters of AVS evolution (variation/year of the maximal aortic transvalvular velocity, AVA and indexed AVA), besides the variation/year of the MATG itself. Since the mechanical stress over the valve seems to be an important factor for the initiation and development of AVS by inducing endothelial wall injury, integrity lost and dysfunction<sup>6,44</sup>, we could speculate that sustained elevated pressure levels on the valvular region, expressed by chronically higher MATG levels, could lead to a greater mechanical trauma to the valve and, therefore, to a faster disease progression.

While some early studies have reached an opposite conclusion (that might be explained by methodological differences) where patients with lower MATG had a faster AVS progression<sup>11, 13</sup>, Otto *et al* demonstrated in a prospective study that a higher baseline maximal aortic transvalvular velocity was associated with worst clinical outcome in AVS patients.<sup>9</sup> Furthermore, Capoulade *et al* recently demonstrated that a more elevated maximal aortic transvalvular velocity was an independent predictor of faster AVS in a multivariate model.<sup>25</sup> As maximal aortic transvalvular

velocity has a linear relationship with MATG, we could assume these results as further elements in favor of an association of a higher MATG with faster AVS evolution, as encountered in our study. Accordingly, AVS patients with elevated baseline MATG should benefit from more frequently echocardiographic examinations in their follow-up.

### **Is statin use associated with faster AVS progression?**

The present study found a significant association between the use of statins and a faster AVS progression, as expressed by the variation/year of the AVA and the indexed AVA, in the multivariate analysis. Considering the previous data reported in the literature, this is a surprising and paradoxal result. Indeed, among the 4 prospective and randomized clinical trials designed to assess AVS progression with the use of statins, one has demonstrated a decrease in the AVS progression with rosuvastatin<sup>19</sup>, whereas the others, that evaluated atorvastatin<sup>18</sup>, simvastatine + ezetimibe<sup>20</sup> and rosuvastatin<sup>21</sup> did not find significant differences concerning AVS progression or aortic valve related events between statin administration *versus* placebo.

A closer look showed that AVS patients using statins in our study had significantly more history of smoking, DM and dyslipidemia than patients who were not using the medication (data not shown). Thus, the association between statin use and a faster AVS progression observed in this study may be explained by the increased presence of cardiovascular risk factors in the statin-user group than in the non-user group, making the “statin use” more of a disease marker than a potential protective intervention in our population. Another possible reason for this finding could be the occurrence of type I error during the analysis, which might have happened in relation to the considerable number of statistical comparisons effectuated. As more characteristics are compared, it becomes more likely that at least one of them will differ significantly between the groups evaluated only by random chance.<sup>61</sup>

### **Aortic regurgitation is associated with slower AVS progression**

In the present study, the presence of AR was significantly associated with a slower AVS progression, as expressed by the variation/year of the AVA and indexed AVA. To the best of our knowledge, this is the first description of a relationship between AR presence and the progression of AVS defined as the variation/year of echocardiographic parameters.

As AR is a concomitant aortic valve condition in the context of AVS, it is contra-intuitive and difficult to Figure how its presence could be associated with a slower and not a faster progression of AVS. In fact, it has been demonstrated that moderate to severe AR is associated to more symptoms and worst prognosis in the setting of severe AVS (compared with pooled mild-AR patients and no-AR patients).<sup>56</sup> However, most patients with AVS present concomitant AR (approximately 80%), more frequently mild to moderate<sup>57</sup>, as we observed in our study (76.2% of AVS patients also manifested AR, of whose 86.6% with mild AR). Moreover, another study demonstrated that the evolution of mild AR is extremely slow, with 95% of the patients not showing any change over a mean interval of 4.2 years.<sup>58</sup> Finally, the clinical significance of a small level of AR is still unknown.<sup>57</sup>

AR may be caused by alteration in the geometry of the structures supporting the leaflets, even when the aortic leaflets themselves are normal: dilation of the base of the aortic root results in AR owing to inadequate coaptation of the stretched leaflets.<sup>59</sup> As dilation of the aortic sinuses and ascending aorta frequently accompanies calcific AVS<sup>4</sup>, it has been suggested that aortic root dilation might be an early adaptative response to decreased proximal aortic stroke volume in AVS.<sup>60</sup> To our knowledge, there is no available study in the literature that evaluated the relationship between AVS progression and the aortic root or the ascending aorta diameters. In the present study, there were significant univariate associations between a slower AVS evolution and wider aortic root (at the Valsalva sinuses level) and ascending aorta diameters. However, these findings did not persist in the multivariate analysis. It should also be mentioned that a dilation of the left ventricular outflow tract (LVOT) could falsely give the impression that AVA is larger by the means of its participation in the continuity equation ( $AVA = (CSA_{LVOT} \times Velocity \ Time \ Integral: VTI_{LVOT}) / VTI_{ASjet}$ )<sup>2</sup> and that there are differences in the LVOT dimensions between men and women (the last are smaller than the former) in the AVS setting, which could also influence AVA calculation.<sup>62</sup>

The presence of AR (especially mild) seems therefore to be independently associated with a slower AVS evolution and could be the result of an adaptive response of the aortic root to the decreased proximal stroke volume in AVS. It would be necessary to confirm the AR association with a slower AVS progression and to test the potential association of wider aortic diameters with AVS progression in larger studies, preferentially prospective.

## **Study limitations**

### *Retrospective nature*

This study was retrospective in nature and thus might suffer from all drawbacks of such analysis, including bias in patients' selection and follow-up. Nevertheless, very interesting observations have been reported in the present study regarding independent predictors of AVS evolution, some of them for the first time, as it was the case for resting heart rate.

### *Lack of control for multiple comparisons*

This study was an exploratory rather than a confirmatory study, meaning that there were no initial hypotheses to be confirmed. For this reason, it was not possible to determine the number of statistical comparisons to be made and to choose an adequate correction test for multiple comparisons from the beginning, in its design. Therefore, there was no control for the numerous comparisons performed. This might have facilitated the occurrence of type I errors. However, the findings of this study bring new hypotheses that may now be further tested by confirmatory studies.

### *Sample size*

Although included in the mean size range (100-200 patients) of most previous AVS progression studies<sup>9,13,14,16,18</sup>, this study had a relatively small number of patients. This might have originated type II errors, preventing the association with AVS progression in multivariate analysis of potential predictors that have demonstrated a strong univariate association with it (LV concentric remodeling, aortic root diameter at the Valsalva sinuses level, basal aortic valve calcification level).

### *External validity*

The present study was made from an ethnically homogenous group of patients with only one AVS etiology (degenerative AVS on tricuspid valve). This greatly increased its internal validity for this specific population and for similar ones, but restricts its external validity, being hard to extend this study's findings to different populations.

## **CONCLUSIONS**

We observed clinical and echocardiographic independent predictors of AVS progression. Some of them, such as heart rate, were described for the first time, adding to the knowledge on the subject and possibly opening new ventures of research in the field. Further prospective studies are needed to validate this study's findings and to try to clarify their pathophysiological mechanisms. Results of this study should contribute to a more personalized approach of AVS follow-up and treatment.

## **ACNOWLEDGEMENTS**

The authors gratefully acknowledge the statistical analysis by Clifford Ekempe, MSc, Annik Fortier, MSc, and Marie-Claude Guertin, PhD, at the Montreal Health Innovations Coordinating Center-MHICC.

This work was supported by the Research Chair (tier 1) in translational and personalized medicine. Dr. Jean-Claude Tardif holds the Canada Research Chair in translational and personalized medicine and the Université de Montréal research chair in atherosclerosis.

## **CONFLICTS OF INTEREST**

None to declare.



## REFERENCES

1. Sverdlov AL, Ngo DT, Chapman MJ, Ali OA, Chirkov YY, Horowitz JD. Pathogenesis of aortic stenosis: not just a matter of wear and tear. *Am J Cardiovasc Dis* 2011;**1**(2):185-199.
2. Otto CM . *Valvular heart disease: a companion to Braunwald's Heart disease*. 3rd ed.. Elsevier Saunders; 2010.
3. Cowell SJ, Newby DE, Boon NA, Elder AT. Calcific aortic stenosis: same old story? *Age Ageing* 2004;**33**:538–544.
4. Lindman BR, Bonow RO, Otto CM. Current Management of Calcific Aortic Stenosis. *Circ Res* 2013;**113**:223-237.
5. Freeman RV, Otto CM. Spectrum of calcific aortic valve disease: pathogenesis, disease progression, and treatment strategies. *Circulation* 2005;**111**:3316–3326.
6. Otto CM. Calcific Aortic Stenosis:Time to look more closely at the valve.*N Engl J Med* 2008;**359**:13:1395-1398.
7. Selzer A. Changing aspects of the natural history of aortic valve stenosis. *N Engl J Med* 1987; **317**:91-98.
8. Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, Carabello BA *et al*. 2014 ACC/AHA Guideline for the management of patients with valvular heart disease: executive summary. *Circulation* 2014;**129**:2440-2492.
9. Otto CM, Pearlman AS, Gardner CL. Hemodynamic progression of aortic stenosis in adults assessed by Doppler echocardiography. *J Am Coll Cardiol* 1989;**13**:545-550.
10. Faggiano P, Ghizzoni G, Sorgato A, et al. Rate of progression of valvular aortic stenosis in adults. *Am J Cardiol* 1992;**70**:229-233.

11. Brener SJ, Duffy CI, Thomas JD, Stewart WJ. Progression of aortic stenosis in 394 patients: relation to changes in myocardial and mitral valve dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 1995;**25**:305-310.
12. Bahler RC, Desser DR, Finkelhor RS, et al. Factors leading to progression of valvular aortic stenosis. *Am J Cardiol* 1999;**84**:1044-1048.
13. Palta S, Pai AM, Gill KS, Pai RG. New insights into the progression of aortic stenosis: implications for secondary prevention. *Circulation* 2000;**101**:2497-2502.
14. Novaro GM, Tiong IY, Pearce GL et al. Effect of hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on the progression of calcific aortic stenosis. *Circulation* 2001;**104**:2205-2209.
15. Aronow WS, Ahn C, Kronzon I, Goldman ME. Association of coronary risk factors and use of statins with progression of mild valvular aortic stenosis in older persons. *Am J Cardiol* 2001;**88**:693–695.
16. Rosenhek R, Binder T, Porenta G, et al. Predictors of outcome in severe, asymptomatic aortic stenosis. *N Engl J Med* 2000;**343**:611-617.
17. Rosenhek R, Klaar U, Schemper M, et al. Mild and moderate aortic stenosis; natural history and risk stratification by echocardiography. *Eur Heart J* 2004;**25**:199-205.
18. Cowell SJ, Newby DE, Prescott RJ, et al. A randomized trial of intensive lipid-lowering therapy in calcific aortic stenosis. *N Engl J Med* 2005;**352**:2389–2397.
19. Moura LM, Ramos SF, Zamorano JL et al. Rosuvastatin affecting aortic valve endothelium to slow the progression of aortic stenosis. *J Am Coll Cardiol* 2007; **49**:554-561.

20. Rossebø AB, Pedersen TR, Boman K, et al. Intensive lipid lowering with simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis. *N Engl J Med* 2008;**359**:1343-1356.
21. Chan KL, Teo K, Dumesnil JG, et al. Effect of Lipid lowering with rosuvastatin on progression of aortic stenosis: results of the aortic stenosis progression observation: measuring effects of rosuvastatin (ASTRONOMER) trial. *Circulation* 2010;**121**(2):306–314.
22. Baumgartner H et al. Echocardiographic assessment of valve stenosis: EAE/ASE recommendations for clinical practice. *Eur J Echocardiogr* 2009;**10**(1):1-25.
23. Yamamoto K et al. Prognostic factors for progression of early- and late-stage calcific aortic valvedisease in Japanese: the Japanese Aortic Stenosis Study (JASS) Retrospective Analysis. *Hypertens Res* 2010;**33**(3):269-274.
24. Kamalesh M et al. Does diabetes accelerate progression of calcific aortic stenosis? *Eur J Echocardiogr* 2009;**10**(6):723-725..
25. Capoulade R et al. Impact of metabolic syndrome on progression of aortic stenosis: influence of age and statin therapy. *J Am Coll Cardiol* 2012;**60**(3):216-223.
26. Rosenhek R, Rader F, Loho N et al. Statins but not angiotensin-converting enzyme inhibitors delay progression of aortic stenosis. *Circulation* 2004;**110**:1291-1295.
27. Wakabayashi et al. Administration of angiotensin-converting enzyme inhibitors is associated with slow progression of mild aortic stenosis in Japanese patients. *Heart Vessels* 2011;**3**:252-257.
28. Goldberg SH et al Insights into degenerative aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol* 2007;**50**:1205–1213.

29. Novaro GM, Katz R, Aviles RJ et al. Clinical factors, but not C-reactive protein, predict progression of calcific aortic-valve disease: the Cardiovascular Health Study. *J Am Coll Cardiol* 2007;**50**:1992–1998.
30. Beckmann E et al. Insights into the Use of Biomarkers in Calcific Aortic Valve Disease. *J Heart Valve Dis* 2010;**4**:441–452.
31. Imai K, Okura H, Kume T et al. C-Reactive protein predicts severity, progression, and prognosis of asymptomatic aortic valve stenosis. *Am Heart J* 2008;**156**:713–718.
32. Weber M, Arnold R, Rau M et al. Relation of N-terminal pro B-type natriuretic peptide to progression of aortic valve disease. *Eur Heart J* 2005;**26**:1023–1030.
33. Capoulade R, Côté N, Mathieu P, Clavel MA, Chan KL, Dumesnil JG et al. Abstract 17551: Association between Circulating Matrix Gla Protein and Progression of Aortic Stenosis: A Substudy of the ASTRONOMER Trial. Circulation AHA Congress.
34. Moura LM, Faria S, Brito M, Pinto FJ et al. Relationship of PON1 192 and 55 gene polymorphisms to calcific valvular aortic stenosis. *Am J Cardiovasc Dis* 2012;**2**(2):123-132.
35. Bossé Y, Mathieu P et al. Genomics: the next step to elucidate the etiology of calcific aortic stenosis. *J Am Coll Cardiol* 2008;**14**:1327-1336.
36. Thanassoulis G, Campbell CY, Owens DS, et al. Genetic Associations with Valvular Calcification and Aortic Stenosis. *N Engl J Med* 2013;**368**:503-12.
37. Arsenault BJ, Dubé MP, Brodeur MR, De Oliveira Moraes AB et al. Evaluation of links between high-density lipoprotein genetics, functionality, and aortic valve stenosis risk in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014;**34**:457-462.

38. Arsenault BJ, Boekholdt SM, Dubé MP, Rhéaume E et al. Lipoprotein(a) levels, genotype and incident aortic valve stenosis: a prospective mendelian randomization study and replication in a case-control cohort. *Circ Cardiovasc Genet* 2014 apr 5 [Epub ahead of print].
39. BMI classification. Global database on body mass index. World Health Organization 2006. **<http://apps.who.int> (15 October 2013)**
40. Wang Y, Moss J, Thisted R. Predictors of body surface area. *J Clin Anesth* 1992;**4**(1):4-10.
41. Lang RM et al. Recommendations for Chamber Quantification: A Report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, Developed in Conjunction with the European Association of Echocardiography, a Branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* 2005;**18**:1440-1463.
42. Nistri S et al. Aortic elasticity and size in bicuspid aortic valve syndrome. *Eur Heart J* 2008;**29**: 472–479.
43. Holme I, Pedersen TR, Boman K, et al. A risk score for predicting mortality in patients with asymptomatic mild to moderate aortic stenosis. *Heart* 2012;**98**:377-383.
44. Helske S, et al. Aortic valve stenosis: an active atheroinflammatory process. *Curr Opin Lipidol*, 2007.;**18**(5):483-91.
45. Yap CH, Saikrishnan N, Tamilselvan G, Yoganathan AP. Experimental measurement of dynamic fluid shear stress on the aortic surface of the aortic valve leaflet. *Biomech Model Mechanobiol* 2012;**11**:171–182.
46. Sucosky P, Balachandran K, Elhammali A, Jo H, Yoganathan AP. Altered shear stress stimulates upregulation of endothelial VCAM-1 and ICAM-1 in a BMP-4 and TGF-beta 1-dependent pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;**29**:254–260.

47. Balachandran K, Hussain S, Yap CH, Padala M, Chester AH, Yoganathan AP. Elevated cyclic stretch and serotonin result in altered aortic valve remodeling via a mechanosensitive 5-HT(2A) receptor-dependent pathway. *Cardiovasc Pathol* 2012;**21**:206–213.
48. Vukasovic JL, Florenzano F, Adriaola P, Escobar E. Heart rate variability in severe aortic stenosis. *J Heart Valve Dis* 1999;**8**:143–8.
49. Arslan U, Ozdemir M, Kocaman SA, et al. Heart rate variability and heart rate turbulence in mild-to-moderate aortic stenosis. *Europace* 2008;**10**:1434–1441
50. Cronin C. Calcific aortic stenosis and autonomic dysfunction. *Med Hypotheses* 1992;**38**(3):252-256.
51. Zhang L, Zalewski A, Liu Y, Mazurek T, Cowan S, Martin JL, Hofmann SM, Vlassara H, Shi Y: Diabetes-induced oxidative stress and low-grade inflammation in porcine coronary arteries. *Circulation* 2003; **108**:472– 478.
52. Mohler ER III, Chawla MK, Chang AW, Vyavahare N, Levy RJ, Graham L, Gannon FH: Identification and characterization of calcifying valve cells from human and canine aortic valves. *J Heart Valve Dis* 1999; **8**:254 –260.
53. Towler DA. Molecular and Cellular Aspects of Calcific Aortic Valve Disease. *Circ Res* 2013;**113**:198-208
54. Miller JD, Chu Y, Brooks RM, Richenbacher WE, Peña-Silva R, Heistad DD. Dysregulation of antioxidant mechanisms contributes to increased oxidative stress in calcific aortic valvular stenosis in humans. *J Am Coll Cardiol* 2008;**52**:843–850.

55. Rydén et al. ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. The Task Force on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology(ESC) and developed in collaboration with the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Eur Heart J* 2013;**34**, 3035–3087.
56. Honda S, Kitai T, Okada Y, et al. Impact of aortic regurgitation on the prognosis of severe aortic stenosis. *Heart* 2012;**98**:1591-1594.
57. Otto CM. *Textbook of clinical echocardiography*. 5th ed. Elsevier Saunders; 2013.
58. Patel R, Kamath A, Varadarajan P, Krishnan S, Pai RG. Slow rate of progression of grade 1 and 2+ aortic regurgitation. *J Heart Valve Dis* 2012; **21**(3):328-330.
59. Le Polain de Waroux JB, Pouleur AC, Goffinet C, Vancraeynest D, Van Dyck M, Robert A, Gerber BL, Pasquet A, El Khoury G, Vanoverschelde JL. Functional anatomy of aortic regurgitation: accuracy, prediction of surgical repairability, and outcome implications of transesophageal echocardiography. *Circulation*. 2007;**116**(11 Suppl):I264-269.
60. Crawford MH, Roldan CA. Prevalence of Aortic Root Dilatation and Small Aortic Roots in Valvular Aortic Stenosis. *Am J Cardiol* 2000;**87**:1311-1313.
61. Ioanidis JPA. Why Most Published Research Findings Are False. *PLoS Med*. 2005; **2**(8): e124.
62. Buellesfeld L, Stortecky S, Kalesan B et al. Aortic Root Dimensions Among Patients With Severe Aortic Stenosis Undergoing Transcatheter Aortic Valve Replacement. *JACC Cardiovascular Interventions* 2013; **4**(1): 72-83.
63. Fleg JL, Strait J. Age-associated changes in cardiovascular structure and function: a fertile milieu for future disease. *Heart Fail Rev* 2012; **17**: 545-554.

64. Lakatta E, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises; part I: aging arteries: a "set up" for vascular disease. *Circulation* 2003; **107**: 139-146.
65. Cernadas MR et al. Expression of constitutive and inducible nitric oxide synthases in the vascular wall of young and aging rats. *Circ Res* 1998; **83**: 279-286.
66. Ortlepp JR, Schmitz F, Mevissen V et al. The amount of calcium-deficient hexagonal hydroxyappetite in aortic valves is influenced by gender and associated with genetic polymorphisms in patients with severe calcific aortic stenosis. *Eur Heart J* 2004; **25**: 514-522.
67. Arnetz L, Ekberg NR, Alvarsson M. Sex differences in type 2 diabetes: focus on disease course and outcomes. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy* 2014;**7**:409-420.
68. Geer EB, Shen W. Gender differences in insulin resistance, body composition, and energy balance. *Gend Med* 2009; **6**; Suppl 1; 60-75.
69. Regitz-Zagrosek V, Lehmkuhl E, Weickert MO. Gender differences in the metabolic syndrome and their role for cardiovascular disease. *Cli Res Cardiol* 2006; **95**(3): 136-147.
70. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev* 2002; **21**(6): 697-738.
71. Kobayashi M, Furukawa Y, Chiba S. Positive chronotropic and inotropic effects of angiotensin II in the dog heart. *Eur J Pharmacol* 1978;**50**(1):17-25.
72. Baker KM, Booz GW, Dostal DE. Cardiac actions of angiotensin II: role of an intracardiac renin-angiotensin system. *Annu Rev Physiol* 1992; **54**: 227-241.
73. Gavras I, Gavras H. The antiarrhythmic potential of angiotensin II antagonism: experience with losartan. *AJH* 2000; **13**:512-527.



## FIGURE LEGENDS

### **Figure 1: Multivariate associations with AVS progression (expressed as the variation per year of the maximal aortic transvalvular velocity – MaxVel\_N).**

$\beta$  = regression coefficient (level of change in the dependent variable when the independent variable increases of 1 unity);  $R^2$ = determination coefficient (percentage of the variation of the dependent variable explained by the model); MaxVel\_1 = value of the maximal aortic transvalvular velocity in the first echocardiography;  $\ln$ MeanGrad\_1= logarithm of MeanGrad\_1 (MeanGrad\_1=value of the mean aortic transvalvular gradient in the first echocardiography);  $\text{MaxVel}_N = \text{constant} + \beta_1 (\text{age}) + \beta_2 (\text{sex}) + \beta_3 (\text{MaxVel}_1) + \beta_n (\text{significant variables})$ .

### **Figure 2: Multivariate associations with AVS progression (expressed as the variation per year of the mean aortic transvalvular gradient – MeanGrad\_N).**

$\beta$  = regression coefficient (level of change in the dependent variable when the independent variable increases of 1 unity);  $R^2$ = determination coefficient (percentage of the variation of the dependent variable explained by the model);  $\ln$ MeanGrad\_1= logarithm of MeanGrad\_1 (MeanGrad\_1 = value of the mean aortic transvalvular gradient in the first echocardiography);  $\text{MeanGrad}_N = \text{constant} + \beta_1 (\text{age}) + \beta_2 (\text{sex}) + \beta_3 (\text{MeanGrad}_1) + \beta_n (\text{significant variables})$ .

### **Figure 3: Multivariate associations with AVS progression (expressed as the variation per year of the aortic valve area – Area\_N).**

$\beta$  = regression coefficient (level of change in the dependent variable when the independent variable increase of 1 unity);  $R^2$ = determination coefficient (percentage of the variation of the dependent variable explained by the model); Area\_1 = value of the aortic valve area in the first echocardiography;  $\ln$ MeanGrad\_1= logarithm of MeanGrad\_1 (MeanGrad\_1 = value of the mean aortic transvalvular gradient in the first echocardiography);  $\text{Area}_N = \text{constant} + \beta_1 (\text{age}) + \beta_2 (\text{sex}) + \beta_3 (\text{Area}_1) + \beta_n (\text{significant variables})$ .

**Figure 4: Multivariate associations with AVS progression (expressed as the variation per year of the indexed aortic valve area – AreaInd\_N).**

$\beta$  = regression coefficient (level of change in the dependent variable when the independent variable increase of 1 unity);  $R^2$  = determination coefficient (percentage of the variation of the dependent variable explained by the model); AreaInd\_1 = value of the indexed aortic valve area in the first echocardiography;  $\ln$ MeanGrad\_1 = logarithm of MeanGrad\_1 (MeanGrad\_1 = value of the mean aortic transvalvular gradient in the first echocardiography); AreaInd\_N = constant +  $\beta_1$  (age) +  $\beta_2$  (sex) +  $\beta_3$  (AreaInd\_1) +  $\beta_n$  (significant variables).

## TABLES

**Table 1: Baseline clinical characteristics of the population**

Variables	AVS patients (n = 126)	
	Value	Valid n
Sex - male (%)	65.1	126
Age (years)	73.5 ± 7.1	126
Caucasian (%)	100	126
French Canadian (%)	84.1	126
Smoking (%)	64.3	126
Coronary artery disease (%)	46.0	126
Hypertension (%)	79.4	126
Diabetes Mellitus (%)	27.8	126
Dyslipidemia (%)	73.8	126
Heart rate (bpm)	66.2 ± 8.0	125
Height (m)	1.64 ± 0.08	125
Abnormal waist girth (%)	64.3	126
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	29.0 ± 4.9	125
Body surface area (m <sup>2</sup> )	1.85 ± 0.19	125
Statins (%)	71.4	126
Warfarin (%)	15.1	126
Calcium (%)	11.9	126
Vitamin D (%)	11.1	126
Biphosphonates (%)	9.5	126
β-blockers (%)	46.8	126
Angiotensin converting enzyme inhibitors	38.9	126
Angiotensin II receptor blockers	31.7	126
New aortic valve replacement (%)	25.4	126
LPA SNP rs10455872 risk allele (G) (%)	18.0	122

Continuous variables: mean ± standard deviation

Categorical variables: %

**Table 2: Baseline echocardiographic characteristics of the population**

Variables	AVS patients (n = 126)	
	Value	Valid n
Maximal aortic transvalvular velocity (m/s)	3.3 ± 0.7	126
Maximal aortic transvalvular gradient (mmHg)	46.2 ± 22.6	126
Mean aortic transvalvular gradient (mmHg)	26.8 ± 12.6	126
Aortic valve area (cm <sup>2</sup> )	1.2 ± 0.3	126
Indexed aortic valve area (cm <sup>2</sup> /m <sup>2</sup> )	0.65 ± 0.17	125
AVS classification (%): Mild	22.2	126
Moderate	54.0	
Severe	23.8	
Aortic valve regurgitation - AR (%)	76.2	126
AR classification (%): None	23	
Mild	66.7	
Moderate	10.3	
Severe	0.0	
Mitral valve regurgitation (%)	80.9	126
LV diastolic diameter (mm)	47.5 ± 6.4	126
LV ejection fraction (%)	58.2 ± 11.0	126
Relative wall thickness (ratio)	0.47 ± 0.10	126
LV concentric remodeling (%)	59.5	126
LV indexed mass (g/m <sup>2</sup> )	108.7 ± 27.4	122
LV hypertrophy (%)	43.4	122
LV diastolic dysfunction (%)	90.6	85
Lef atrium diameter	40.9 ± 6.8	125
Aortic diameter - Valsalva sinus (mm)	32.1 ± 4.5	126
Aortic diameter - Ascending aorta (mm)	34.6 ± 4.5	119
Aortic strain index - 2D	0.03 ± 0.03	126
Aortic strain index – Mode M	0.06 ± 0.05	78
Aortic valve calcification area / aortic valve ring area	0.27 ± 0.13	111
Aortic valve calcification score (%) : 1	5.5	126
2	43.6	
3	40.5	
4	10.3	

Continuous variables: mean ± standard deviation; Categorical variables: %

LV: left ventricle

**Table 3: AVS echocardiographic progression**

Echocardiographic parameters of interest	Normalized variable (N)	Mean (N)
Maximal aortic transvalvular velocity	MaxVel_N (m/s/y)	<b>0.14 ± 0.34</b>
Mean aortic transvalvular gradient	MeanGrad_N (mmHg/y)	<b>4.1 ± 6.1</b>
Aortic valve area	Area_N (cm <sup>2</sup> /y)	<b>- 0.07 ± 0.12</b>
Indexed aortic valve area	AreaInd_N (cm <sup>2</sup> / m <sup>2</sup> / y)	<b>- 0.04 ± 0.06</b>

Values: mean ± standard deviation

Normalized variable = (value<sub>last echo</sub> – value<sub>first echo</sub>) / time in years between the 2 echos

Echo: echocardiographic examination

Mean follow-up: 2.37 ± 1.04 years

**Table 4: Univariate associations with AVS echocardiographic progression****Baseline clinical and genetic parameters**

Variables	MaxVel_N	MeanGrad_N	Area_N	AreaInd_N
Age	NS	NS	NS	NS
Sex (Female)	↑; 0.012	↑; 0.024	NS	NS
Height	↓; 0.01	↓; 0.01	NS	NS
Heart rate	↑; 0.02	↑; 0.01	↑; NS (0.06)	↑; 0.03
Diabetes Mellitus	↑; 0.0003	↑; <0.0001	↑; 0.02	↑; 0.007
Abnormal waist girth	↑; NS (0.14)	↑; NS (0.08)	NS	NS
Dyslipidemia	NS	NS	↑; NS (0.12)	↑; NS (0.14)
Statins	NS	NS	↑; 0.03	↑; 0.03
β-blockers	↓; 0.03	NS	NS	NS
LPA SNP rs10455872 risk allele(G)	↑; NS (0.14)	NS	NS	NS

↑ or ↓: Direction of the association of the parameter with the AVS progression; p value

NS: non-significant association

Note: For the aortic valve areas, the increase of the AVS progression (↑) means a greater diminution of the area value over time

**Table 5: Univariate associations with AVS echocardiographic progression****Baseline echocardiographic parameters**

<b>Variables</b>	<b>MaxVel_N</b>	<b>MeanGrad_N</b>	<b>Area_N</b>	<b>AreaInd_N</b>
<b>Maximal aortic transvalvular velocity</b>	↑; NS (0.06)	↑; < 0.0001	↑; < 0.0001	↑; < 0.0001
<b>Maximal aortic transvalvular gradient</b>	↑; NS (0.06)	↑; < 0.0001	↑; < 0.019	↑; < 0.02
<b>Mean aortic transvalvular gradient</b>	↑; 0.01	↑; < 0.001	↑; 0.007	↑; 0.009
<b>Aortic valve area</b>	↓; 0.01	↓; < 0.0001	NS	NS
<b>Indexed aortic valve area</b>	↓; 0.02	↓; < 0.0001	NS	NS
<b>AVS classification</b>	↑; 0.009	↑; < 0.001	NS	NS
<b>Aortic valve regurgitation</b>	NS	NS	↓; 0.03	↓; 0.04
<b>LV diastolic diameter</b>	↓; 0.008	↓; 0.03	↓; 0.02	↓; 0.03
<b>Relative wall thickness</b>	↑; NS (0.08)	↑; 0.03	↑; 0.01	↑; 0.02
<b>LV concentric remodeling</b>	NS	↑; NS (0.12)	↑; 0.002	↑; 0.004
<b>LV diastolic dysfunction</b>	NS	↑; NS (0.08)	NS	NS
<b>Aortic diameter - Valsalva sinus</b>	↓; 0.005	↓; 0.001	NS	NS
<b>Aortic diameter - Ascending aorta</b>	↓; 0.03	↓; NS (0.1)	NS	NS
<b>Aortic strain index - 2D</b>	↓; NS (0.2)	NS	↓; NS (0.14)	↓; (NS) 0.2
<b>Aortic strain index – Mode M</b>	↓; NS (0.15)	↓; NS (0.11)	NS	NS
<b>Aortic valve calcification area / aortic valve ring area</b>	↑; 0.001	↑; 0.006	NS	NS
<b>Aortic valve calcification score</b>	↑; 0.02	↑; 0.004	↑; NS (0.13)	↑; NS (0.13)

↑ or ↓: Direction of the association of the parameter with AVS progression; p value

LV: left ventricle; NS: non-significant association

Note: For the aortic valve areas, the increase of the AVS progression (↑) means a greater diminution of the area value over time

**Table 6: Impact of interaction on multivariate associations with AVS progression (expressed as the variation per year of the maximal aortic transvalvular velocity- MaxVel\_N)**

Variables	MaxVel_N			
	Original multivariate model		Multivariate model with interaction term	
	$\beta$	p	$\beta$	p
Constant	-0.71	0.07	-0.64	0.1
Age	-0.004	0.26	-0.00381	0.3
Sex	-0.087	0.11	-0.16	0.01
MaxVel_1	-0.59	< 0.0001	-0.57	<0.0001
DM	0.2	0.0008	0.05	0.57
lnMeanGrad_1	0.97	<0.0001	0.95	<0.0001
Sex*DM			0.24	0.04 <sup>a</sup>

a. The interaction between Sex and DM is significant, indicating that the effect of DM on MaxVel\_N (expressed by  $\beta$ ) should be analyzed separately for females and males.

DM effect on MaxVel\_N for females:  $\beta=0.05$ ;  $p=0.57$ ; Ø association with AVS progression

DM effect on MaxVel\_N for males:  $\beta=0.29$ ;  $p<0.0001$ ; ↑ AVS progression

$\beta$  = regression coefficient (level of change in the dependent variable when the independent variable increases of 1 unit); MaxVel\_1 = value of the maximal aortic transvalvular velocity in the first echocardiography; DM=diabetes mellitus; lnMeanGrad\_1= logarithm of MeanGrad\_1 (MeanGrad\_1=value of the mean aortic transvalvular gradient in the first echocardiography); MaxVel\_N = constant +  $\beta_1$  (age) +  $\beta_2$  (sex) +  $\beta_3$  (MaxVel\_1) +  $\beta_n$  (significant variables) +  $\beta_i$  (significant interaction).

**Table 7: Impact of interactions on multivariate associations with AVS progression  
(expressed as the variation per year of the mean aortic transvalvular gradient-  
MeanGrad\_N)**

Variables	MeanGrad_N			
	Original multivariate model		Multivariate model with interaction terms	
	$\beta$	p	$\beta$	p
Constant	-19.33	0.019	100.84	0.0077
Age	0.00396	0.95	-1.45	0.0041
Sex	-0.34	0.74	-19.67	0.01
lnMeanGrad_1	3.55	0.0027	3.77	0.0007
DM	3.88	0.0006	-0.9	0.58
Heart rate - HR	0.16	0.01	-1.58	0.0039
Age * HR			0.02	0.0033 <sup>a</sup>
Sex * HR			0.25	0.03 <sup>b</sup>
Sex * DM			7.7	0.0003 <sup>c</sup>

a. The interaction between Age and HR is significant, indicating that the effect of HR on MeanGrad\_N (expressed by  $\beta$ ) should be analyzed separately for different stages of age (represented by the values of quartile 1, median and quartile 3).

HR effect for Age=68 years (quartile 1):  $\beta = 0.05$ ;  $p = 0.4$ ; Ø association with AVS progression

HR effect for Age=74 years (median):  $\beta = 0.16$ ;  $p = 0.006$ ; ↑ AVS progression

HR effect for Age=79 years (quartile 3):  $\beta = 0.27$ ;  $p = 0.0001$ ; ↑ AVS progression

b. The interaction between Sex and HR is significant, indicating that the effect of HR on MeanGrad\_N (expressed by  $\beta$ ) should be analyzed separately for females and males.

HR effect for females:  $\beta = 0.01$ ;  $p = 0.89$ ; Ø significant association with AVS progression

HR effect for males:  $\beta = 0.24$ ;  $p < 0.0018$ ; ↑ AVS progression

c. The interaction between Sex and DM is significant, indicating that the effect of DM on MeanGrad\_N (expressed by  $\beta$ ) should be analyzed separately for females and males.

DM effect for females:  $\beta = -0.9$ ;  $p = 0.58$ ; Ø significant association with AVS progression

DM effect for males:  $\beta = 6.8$ ;  $p < 0.0001$ ; ↑ AVS progression

$\beta$  = regression coefficient (level of change in the dependent variable when the independent variable increases of 1 unit); ; lnMeanGrad\_1= logarithm of MeanGrad\_1 (MeanGrad\_1=value of the mean aortic transvalvular gradient in the first echocardiography); DM=diabetes mellitus; MeanGrad\_N = constant +  $\beta_1$  (age) +  $\beta_2$  (sex) +  $\beta_3$  (lnMeanGrad\_1) +  $\beta_n$  (significant variables) +  $\beta_i$  (significant interactions).



**Table 8: Impact of interaction on multivariate associations with AVS progression  
(expressed as the variation per year of the aortic valve area – Area\_N)**

Variables	Area_N			
	Original multivariate model		Multivariate model with interaction term	
	$\beta$	p	$\beta$	p
Constant	0.72	0.0005	-1.01	0.19
Age	-0.0009	0.55	0.02	0.02
Sex	0.04	0.05	0.03	0.1
Area_1	-0.14	0.0002	-0.15	<0.0001
lnMeanGrad_1	-0.11	0.0005	-0.13	<0.0001
Statins	-0.08	0.0006	-0.08	0.0002
AR	0.05	0.0019	0.07	0.002
Heart rate - HR	-0.003	0.01	0.02	0.03
Age * HR			-0.0003	0.018 <sup>a</sup>

a. The interaction between Age and HR is significant, indicating that the effect of HR on Area\_N (expressed by  $\beta$ ) should be analyzed separately for different stages of age (represented by the values of quartile 1, median and quartile 3).

HR effect for Age=68 years (quartile 1):  $\beta$ = -0.0014.05; p= 0.32; Ø association with AVS progression

HR effect for Age=74 years (median):  $\beta$ =-0.003; p=0.01; ↑ AVS progression

HR effect for Age=79 years (quartile 3):  $\beta$ =-0.005; p=0.0007; ↑ AVS progression

$\beta$  = regression coefficient (level of change in the dependent variable when the independent variable increases of 1 unit); ); Area\_1 = value of the aortic valve area in the first echocardiography; lnMeanGrad\_1= logarithm of MeanGrad\_1 (MeanGrad\_1=value of the mean aortic transvalvular gradient in the first echocardiography); DM=diabetes mellitus; AR=aortic regurgitation; Area\_N = constant +  $\beta_1$  (age) +  $\beta_2$  (sex) +  $\beta_3$  (Area\_1) +  $\beta_n$  (significant variables) +  $\beta_i$  (significant interaction).

Note: For the aortic valve area, the increase of the AVS progression (↑) means a greater diminution of the area value over time. Therefore, ↑ AVS progression is determined by a negative signal of  $\beta$ .

**Table 9: Impact of interactions on multivariate associations with AVS progression  
(expressed as the variation per year of the indexed aortic valve area – AreaInd\_N)**

Variables	AreaInd_N			
	Original multivariate model		Multivariate model with interaction terms	
	$\beta$	p	$\beta$	p
Constant	0.36	0.0007	-0.97	0.011
Age	0.0002	0.76	0.017	0.0008
Sex	0.01	0.26	0.02	0.04
AreaInd_1	-0.16	<0.0001	-0.18	<0.0001
DM	-0.02	0.02	0.003	0.23
Heart rate - HR	-0.001	0.01	-1.58	0.0039
Statins	-0.03	0.0014	-0.03	0.0006
AR	0.03	0.0007	0.03	0.0028
Age * HR			-0.0002	0.0007 <sup>a</sup>
Sex * DM			-0.05	0.009 <sup>b</sup>

a. The interaction between Age and HR is significant, indicating that the effect of HR on AreaInd\_N (expressed by  $\beta$ ) should be analyzed separately for different stages of age (represented by the values of quartile 1, median and quartile 3).

HR effect for Age=68 years (quartile 1):  $\beta = -0.00007$ ;  $p = 0.92$ ; Ø association with AVS progression

HR effect for Age=74 years (median):  $\beta = -0.001$ ;  $p = 0.029$ ; ↑ AVS progression

HR effect for Age=79 years (quartile 3):  $\beta = -0.002$ ;  $p = 0.0001$ ; ↑ AVS progression

b. The interaction between Sex and DM is significant, indicating that the effect of DM on AreaInd\_N (expressed by  $\beta$ ) should be analyzed separately for females and males.

DM effect for females:  $\beta = 0.003$ ;  $p = 0.82$ ; Ø association with AVS progression

DM effect for males:  $\beta = -0.05$ ;  $p < 0.0002$ ; ↑ AVS progression

$\beta$  = regression coefficient (level of change in the dependent variable when the independent variable increase of 1 unity); AreaInd\_1 = value of the indexed aortic valve area in the first echocardiography; AR=aortic regurgitation; AreaInd\_N = constant +  $\beta_1$  (age) +  $\beta_2$  (sex) +  $\beta_3$  (AreaInd\_1) +  $\beta_n$  (significant variables) +  $\beta_i$  (significant interactions).

Note: For the aortic valve area, the increase of the AVS progression (↑) means a greater diminution of the area value over time. Therefore, ↑ AVS progression is determined by a negative signal of  $\beta$ .

## FIGURES

Figure 1

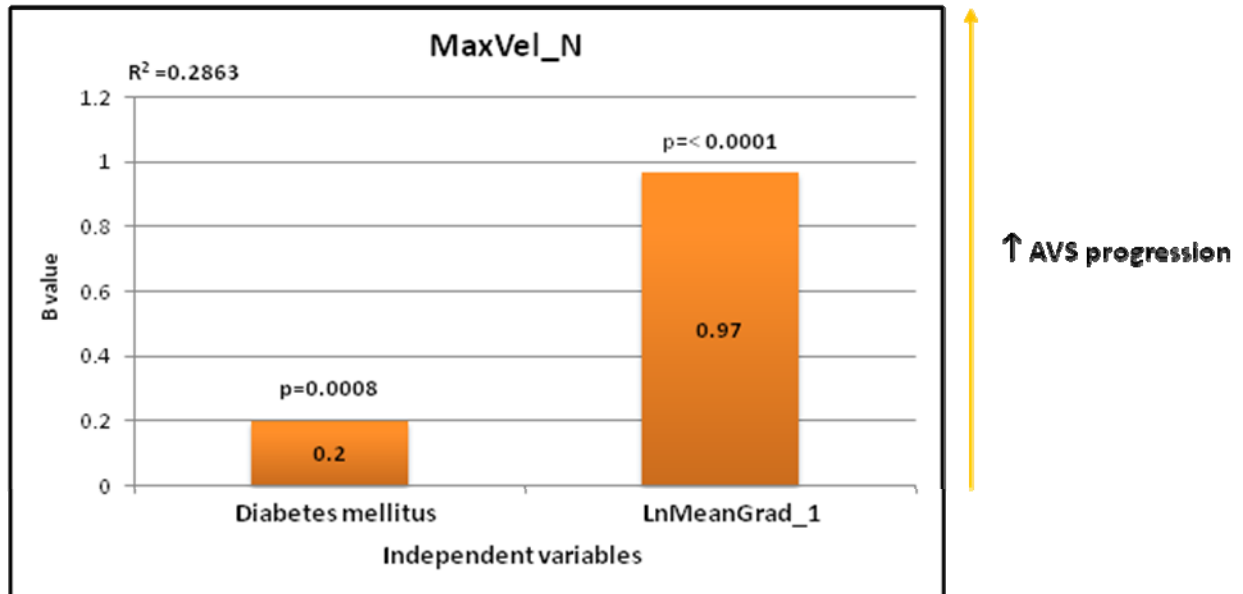


Figure 2

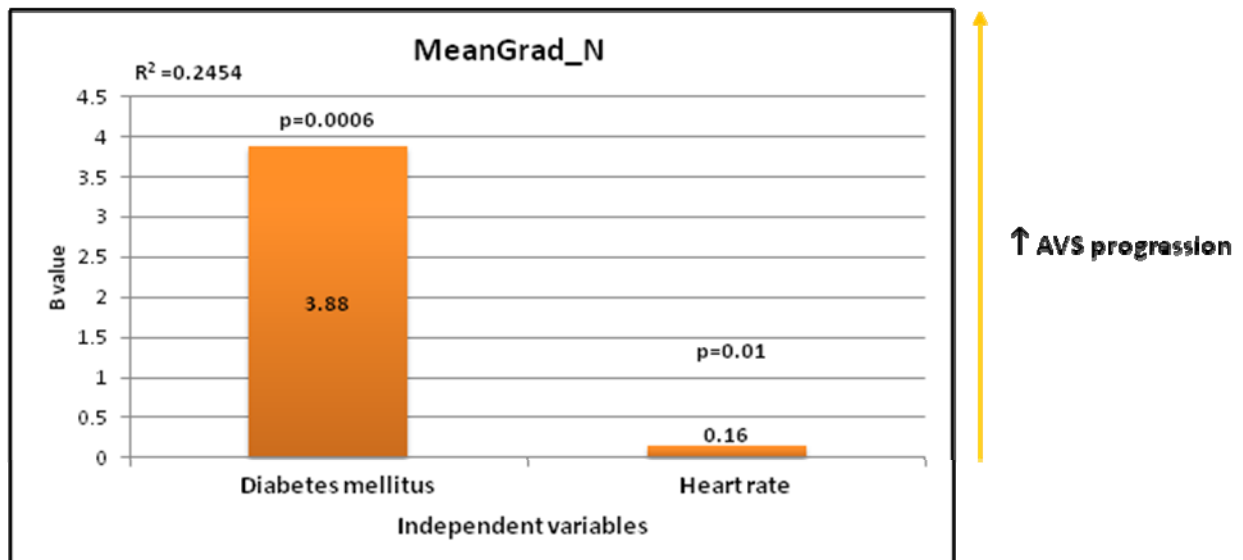


Figure 3

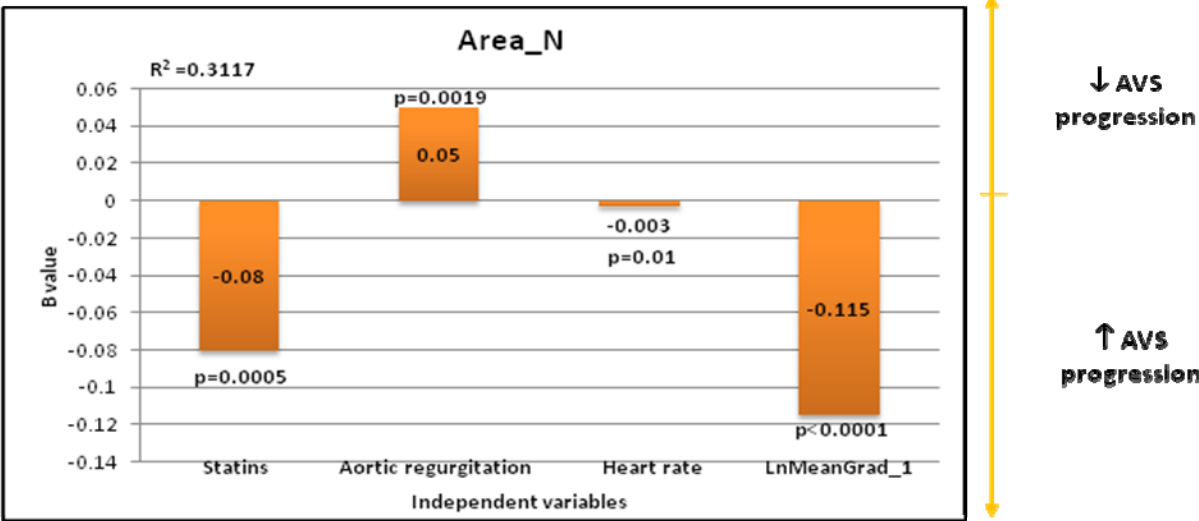
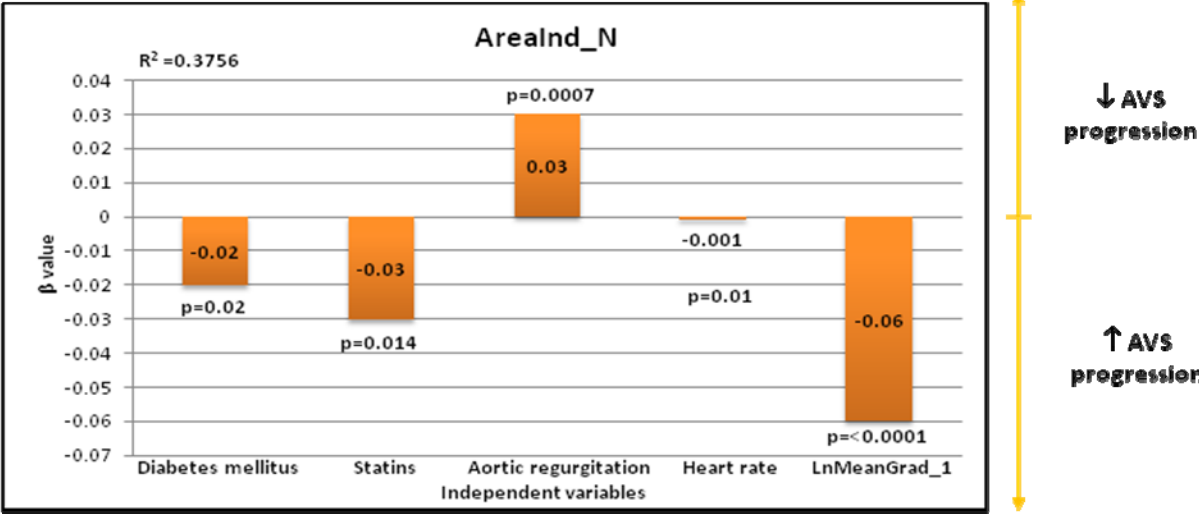


Figure 4



## Résultats complémentaires

Ce chapitre décrit les résultats préliminaires de la deuxième étape de notre projet, soit l'évaluation des biomarqueurs plasmatiques quant à leur association avec la présence et la progression de la SVA. Les récents avancements de l'étude VALID-ACTION sont également présentés en fin de ce chapitre.

### **1. Caractéristiques cliniques, génétiques et échocardiographiques de base de la population**

#### **1.1 Caractéristiques cliniques et génétiques de base**

Pour la présente sous-étude, nous avons sélectionné tous les sujets SVA de l'étude principale qui avaient eu au moins 2 échocardiogrammes non-invasifs séparés par un intervalle minimum de 6 mois (total de 126). Nous avons également sélectionné un nombre égal de témoins appariés aux cas pour des critères cliniques d'intérêt (âge, sexe, tabagisme, MCAS, hypertension, diabète, dyslipidémie, utilisation de statines; *cf* section 1 des Méthodes Détaillées).

L'appariement souhaité des cas et témoins a été validé pour tous les critères cliniques d'intérêt choisis (sexe, tabagisme, MCAS, hypertension, diabète, dyslipidémie et utilisation de statines), à l'exception de l'âge qui était significativement plus élevé parmi les cas. Toutefois, les 2 groupes présentaient un âge moyen avancé (73,5 ans pour les cas et 71,4 ans pour les témoins).

Dans son ensemble, la population était à prédominance masculine (65,1% pour les cas et témoins) et ethniquement très homogène (100% des sujets étaient caucasiens dont 84,1% des cas et 85,7% des témoins étaient d'origine canadienne-française). La prévalence des facteurs de risque athérosclérotiques était élevée dans les 2 groupes, avec une histoire de tabagisme,

d'hypertension ou de dyslipidémie pour 60-80% des patients et de MCAS pour un peu plus de 40% des individus. Un peu moins d'un tiers des sujets dans les 2 groupes était atteint de diabète.

Concernant les données morphologiques et les signaux vitaux, dans les 2 groupes, la majorité des patients présentait du surpoids, avec une tendance non-significative ( $p=0,11$ ) d'un indice de masse corporelle (*body mass index – BMI*) moyen plus élevé parmi les cas (29,0 *versus* 28,4 kg.m<sup>-2</sup> pour les témoins). Toutefois, le pourcentage de patients ayant un tour de taille anormal (>102 cm pour les hommes, >88 cm pour les femmes) était significativement plus élevé chez les cas que chez les témoins (64,3% *versus* 49,2%,  $p=0,016$ ). Il n'y avait pas de différence significative ni pour les mesures de pression artérielle ni pour la fréquence cardiaque de repos moyenne entre les 2 groupes.

Concernant l'usage des médicaments, on a observé une différence significative entre les 2 groupes pour la warfarine, qui était plus utilisée chez les témoins (37,3% *versus* 15,1% des cas,  $p<0,001$ ). Au niveau du polymorphisme génétique analysé (allèle de risque G du SNP rs 10455872 du gène LPA), il y avait une tendance non-significative d'une fréquence plus élevée chez les cas (18,0% *versus* 10,8% des témoins,  $p=0,11$ ). La description des principales données cliniques et génétiques de base pour les cas et témoins est présentée dans le Tableau IX.

**Tableau IX: Caractéristiques cliniques et génétiques de base des cas et témoins**

Variables	Cas (n = 126)		Témoins (n = 126)		p
	Valeur	n valide	Valeur	n valide	
Sexe masculin (%)	65,1	126	65,1	126	1,0
Âge (ans)	73,5 ± 7,1	126	71,4 ± 6,5	126	0,011
Caucasiens (%)	100	126	100	126	1,0
Canadiens français (%)	84,1	126	85,7	126	0,7
Tabagisme (%)	64,3	126	62,7	126	0,8
MCAS (%)	46,0	126	46,8	126	1,0
Hypertension (%)	79,4	126	77,8	126	0,75
Diabète (%)	27,8	126	23,0	126	0,38
Dyslipidémie (%)	73,8	126	73,8	126	1,0
Statines (%)	71,4	126	72,2	126	0,88
β –bloqueurs (%)	46,8	126	54,8	126	0,2
Warfarine (%)	15,1	126	37,3	126	<0,001
Calcium (%)	11,9	126	13,5	126	0,7
Vitamine D (%)	11,1	126	15,1	126	0,35
Bisphosphonates (%)	9,5	126	5,6	126	0,23
Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (%)	38,9	126	36,5	126	0,7
Bloqueurs des récepteurs de l'angiotensine II (%)	31,7	126	30,2	126	0,8
Tour de taille anormal (%)	64,3	126	49,2	126	0,016
Indice de masse corporelle (%)	29,0 ± 4,9	125	28,4 ± 5,0	125	0,11
Fréquence cardiaque (bpm)	66,2 ± 8,0	125	66,1 ± 9,9	126	0,9
Nouveau RVA (%)	25,4	126			
Allèle de risque (G) du SNP rs10455872 du gène LPA (%)	18,0	122	10,8	120	0,11

Variables continues: moyenne ± écart-type; variables discrètes : %

MCAS: maladies cardiaques athérosclérotiques, RVA: remplacement valvulaire aortique.

## 1.2 Caractéristiques échocardiographiques de base

On remarque premièrement que la vitesse transvalvulaire aortique maximale moyenne des cas était significativement beaucoup plus élevée que celle des témoins (3,3 m/s *versus* 1,3 m/s), confirmant ainsi la différence des phénotypes entre les cas (« avec SVA ») et les témoins (« sans SVA »).

La sévérité de la SVA était principalement modérée au début de la période de suivi (54% des cas). Toutefois, on pouvait déjà observer des différences significatives entre les cas et les témoins concernant des altérations de la structure et de la fonction du VG conséquentes à la SVA: le remodelage concentrique, l'hypertrophie et la dysfonction diastolique du VG étaient significativement plus fréquents parmi les cas. La fraction d'éjection moyenne du VG était normale pour les 2 groupes, en étant légèrement mais significativement plus élevée parmi les cas (58,2% *versus* 55,8% parmi les témoins). Le diamètre diastolique final du VG était normal et similaire pour les 2 groupes.

La régurgitation aortique, condition concomitante commune dans la présence de SVA, était significativement plus présente parmi les cas que les témoins (76,2% *versus* 38,4%). La description des principales caractéristiques échocardiographiques de base des cas et témoins est présentée dans le Tableau X.



**Tableau X: Caractéristiques échocardiographiques de base des cas et témoins**

Variables	Cas (n = 126)		Témoins (n = 126)		p
	Valeur	n valide	Valeur	n valide	
Vitesse transvalvulaire aortique maximale (m/s)	3,3 ± 0,7	119	1,3 ± 0,4	118	<0,001
Gradient transvalvulaire aortique moyen (mmHg)	26,8 ± 12,6	126			
Aire valvulaire aortique (cm <sup>2</sup> )	1,2 ± 0,3	126			
Aire valvulaire aortique indexée (cm <sup>2</sup> /m <sup>2</sup> )	0,65 ± 0,17	125			
Classification SVA (%): Légère	22,2	126			
Modérée	54				
Sévère	23,8				
Régurgitation aortique (%)	76,2	126	38,4	125	<0,001
Fraction d'éjection VG (%)	58,2 ± 11,0	126	55,8 ± 11,5	125	0,011
Diamètre diastolique VG (mm)	47,5 ± 6,4	126	49,3 ± 7,5	121	0,1
Remodelage concentrique VG (%)	59,5	126	41,7	126	0,005
Hypertrophie VG (%)	43,4	122	31,0	116	0,048
Dysfonction diastolique VG (%)	90,6	85	73,3	75	0,004

Variables continues: moyenne ± écart-type; variables discrètes : %

SVA : sténose valvulaire aortique, VG : ventricule gauche

## **2. Évolution échocardiographique de la SVA**

Le suivi moyen de l'évolution échocardiographique de la SVA parmi les cas a été de 2,4 années. Cette progression, caractérisée par la variation par année des 4 paramètres échocardiographiques d'intérêt (vitesse transvalvulaire aortique maximale, gradient transvalvulaire aortique moyen, AVA et AVA indexée), a été décrite dans le Tableau 3 de la section Résultats de l'Article Scientifique.

## **3. Associations univariées des biomarqueurs plasmatiques avec la présence de SVA**

Les biomarqueurs plasmatiques ont, jusqu'à présent, été analysés chez 80 patients des 252 sujets de la cohorte de l'étude (43 cas et 37 témoins). Les résultats préliminaires principaux des analyses univariées concernant l'association des biomarqueurs plasmatiques avec la présence de SVA dans ce sous-groupe de patients sont résumés dans le Tableau XI.

De manière intéressante, nous avons observé que des biomarqueurs plasmatiques reliés au métabolisme du glucose et des lipides, dont des valeurs altérées peuvent amener au diagnostic de syndrome métabolique, étaient significativement associés à la présence de SVA. Parmi les cas, la concentration plasmatique des HDL était plus faible (1,28 mmol/L *versus* 1,49 mmol/L), la concentration plasmatique du glucose était plus élevée (7,5 mmol/L *versus* 6,4 mmol/L) et il y avait une tendance non-significative à une concentration plasmatique de triglycérides plus élevée (1,95 mmol/L *versus* 1,50 mmol/L,  $p=0,082$ ). Nous n'avons pas observé de différences significatives entre les cas et les témoins concernant la concentration plasmatique des LDL. Toutefois, il y avait une tendance à une concentration plasmatique plus élevée de l'apoB (principale composante des LDL) parmi les cas (0,83 g/L *versus* 0,74 g/L,  $p=0,072$ ). Également, par rapport aux témoins, les cas présentaient une tendance à la hausse du ratio apoB/apoA-I (0,57 *versus* 0,51,  $p=0,108$ ). Du point de vue de la concentration plasmatique de la Lp(a), il n'y a pas eu de différences significatives entre les 2 groupes, malgré une faible tendance à une concentration plus élevée parmi les cas (0,27 g/L *versus* 0,21 g/L,  $p=0,183$ ).

Les biomarqueurs plasmatiques alternatifs du métabolisme du glucose (insuline et hémoglobine glyquée) n'ont pas démontré d'association avec la présence de la SVA. Aucune association statistiquement significative n'a non plus pu être démontrée entre la présence de SVA et la protéine C réactive (*C reactive protein* – *CRP*; biomarqueur plasmatique de l'inflammation) ou la *gamma-glutamyl transferase* (*GGT*, biomarqueur plasmatique de la fonction hépatique) ou l'ostéopontine (biomarqueur des processus de calcification).

Les 2 biomarqueurs plasmatiques évalués de la fonction rénale ont démontré une association inverse significative avec la présence de SVA: la concentration plasmatique de créatinine était plus élevée parmi les cas (101,1  $\mu\text{mol/L}$  *versus* 91,9  $\mu\text{mol/L}$ ) et le taux de filtration glomérulaire était plus élevé parmi les témoins (58,11  $\text{ml/min/1,73m}^2$  *versus* 65,09  $\text{ml/min/1,73m}^2$ ).

De façon inattendue, la concentration plasmatique de la diméthyl-arginine asymétrique (*Asymmetric dimethylarginine* – *ADMA*), biomarqueur plasmatique de la dysfonction endothéliale, était significativement plus élevée parmi les témoins que parmi les cas (0,72  $\mu\text{mol/L}$  *versus* 0,54  $\mu\text{mol/L}$ ).

Finalement, les biomarqueurs plasmatiques en lien avec les altérations du VG (NT-pro-BNP, créatine kinase, troponine T de haute sensibilité (HS)) n'ont pas démontré d'association statistiquement significative pour la présence de SVA. Toutefois, nous avons pu observer une tendance à la hausse de la troponine T-HS chez les cas par rapport aux témoins (14,33  $\text{ng/L}$  *versus* 10,89  $\text{ng/L}$ ,  $p=0,055$ ).

**Tableau XI: Associations univariées des biomarqueurs plasmatiques avec la présence de SVA**

Variables	Cas (n=43)		Témoins (n=37)		p
	Valeur	n valide	Valeur	n valide	
apoB (g/L)	0,83 ± 0,20	35	0,74 ± 0,23	37	0,072
HDL (mmol/L)	1,28 ± 0,49	35	1,49 ± 0,49	37	0,04
apoB/apoA-I	0,57 ± 0,16	35	0,51 ± 0,18	37	0,108
Triglycérides (mmol/L)	1,95 ± 1,01	35	1,50 ± 0,73	37	0,082
LP(a) (g/L)	0,27 ± 0,26	35	0,21 ± 0,27	37	0,183
Glucose (mmol/L)	7,50 ± 2,65	35	6,40 ± 1,85	37	0,02
Insuline (pmol/L)	250,5 ± 257,8	35	192,0 ± 234,6	37	0,308
CRP (mg/L)	2,30 ± 2,18	35	2,22 ± 2,45	37	0,9
GGT (IU/L)	47,1 ± 28,9	35	42,1 ± 26,6	37	0,45
Créatinine (μmol/L)	101,1 ± 19,6	35	91,9 ± 23,5	37	0,034
GFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	58,1 ± 13,2	35	65,1 ± 15,7	37	0,048
Ostéopontine (ng/ml)	3,04 ± 1,17	43	2,86 ± 0,75	37	0,7
ADMA (μmol/L)	0,54 ± 0,13	43	0,72 ± 0,17	37	< 0,0001
Troponine T- HS (ng/L)	14,33 ± 14,16	43	10,89 ± 7,47	37	0,055
Hémoglobine glyquée (%)	5,9 ± 0,6	43	5,8 ± 0,6	37	0,6

Valeurs: moyenne ± écart-type

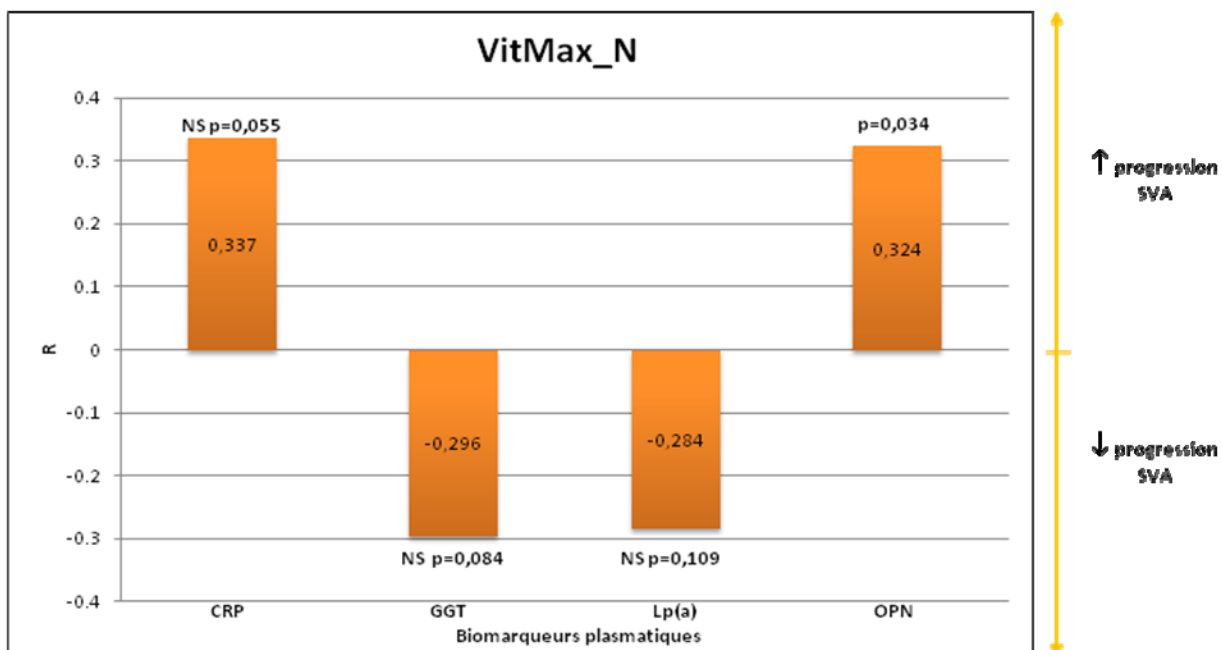
ADMA: diméthyl-arginine asymétrique, APOA-1: apolipoprotéine A-I, APOB: apolipoprotéine B, CRP: protéine C-réactive, GGT: gamma-glutamyl transpeptidase, GFR: taux de filtration glomérulaire, HS: de haute sensibilité.

#### **4. Associations univariées des biomarqueurs plasmatiques avec la progression de la SVA**

Dans la présente étude, la progression de la SVA est définie comme la variation par année des 4 paramètres échocardiographiques d'intérêt, à savoir: vitesse transvalvulaire aortique maximale (VitMax\_N), gradient transvalvulaire aortique moyen (GradMoy\_N), AVA (Aire\_N) et AVA indexée (AireInd\_N). Pour chacun de ces 4 paramètres échocardiographiques d'intérêt, les représentations graphiques des associations univariées significatives (ou avec une forte tendance à la significativité) des biomarqueurs plasmatiques avec la progression de la SVA sont présentées dans les Figures 19 à 22.

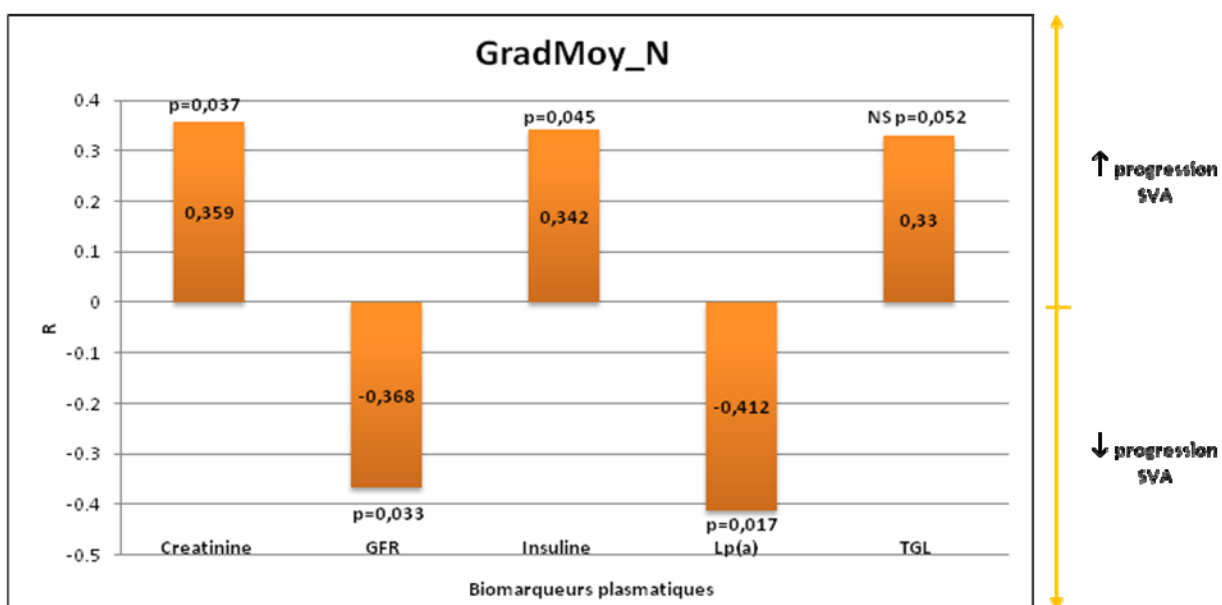
La progression rapide de la SVA était significativement associée avec une concentration basale élevée des biomarqueurs plasmatiques suivants : ostéopontine, créatinine, glucose, insuline, triglycérides et ADMA; une tendance non significative a pu être observée pour les concentrations élevées de CRP.

Une progression lente de la SVA était significativement associée à une concentration plasmatique de base élevée de HDL ainsi qu'à un taux de filtration glomérulaire de base élevé (pattern « miroir » au comportement présenté par la créatinine). Très curieusement, la progression lente de la SVA était également associée à une concentration plasmatique de base élevée de Lp(a) (association significative concernant GradMoy\_N, forte tendance à la significativité concernant VitMax\_N, Aire\_N et AireInd\_N). Enfin, nous avons observé une tendance à l'association significative entre l'évolution lente de la SVA et une concentration plasmatique de base élevée de GGT.



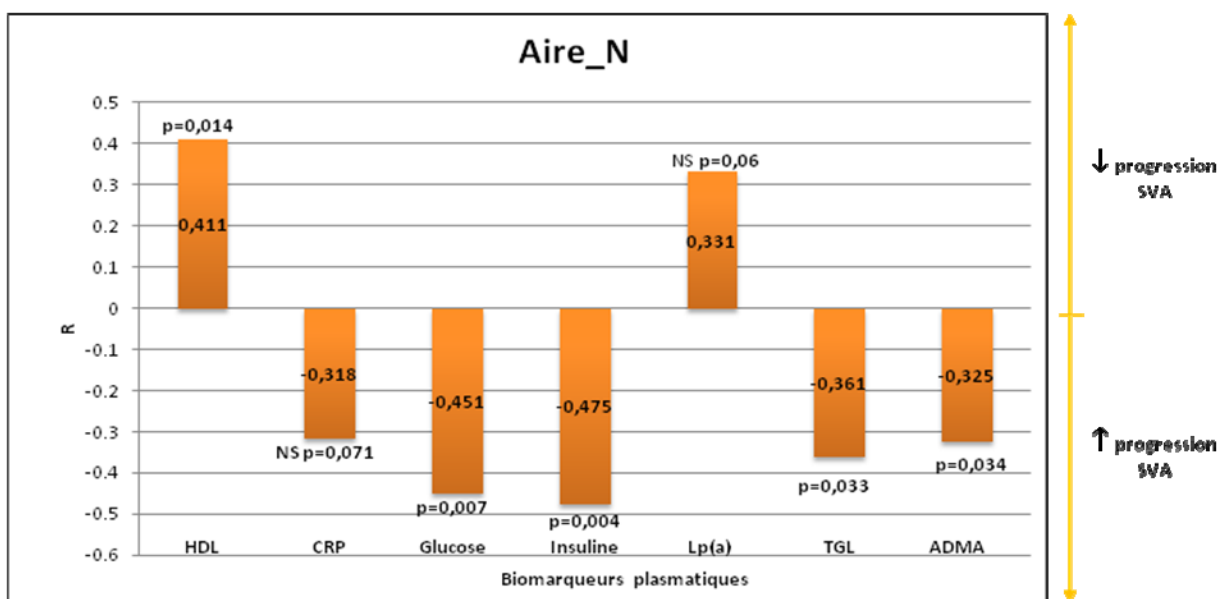
**Figure 19: Associations univariées des biomarqueurs plasmatiques avec la progression de la SVA (caractérisées par la variation par année de la vitesse transvalvulaire aortique maximale – VitMax\_N).**

R=coefficient de corrélation.

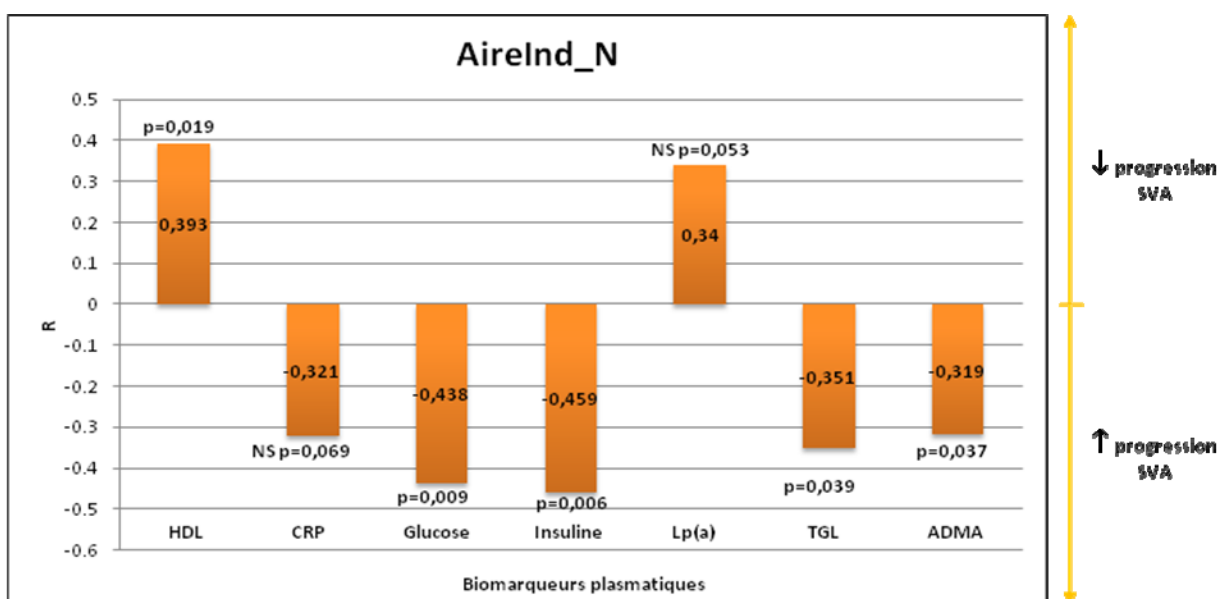


**Figure 20: Associations univariées des biomarqueurs plasmatiques avec la progression de la SVA (caractérisées par la variation par année du gradient transvalvulaire aortique moyen – GradMoy\_N).**

R=coefficient de corrélation.



**Figure 21: Associations univariées des biomarqueurs plasmatiques avec la progression de la SVA (caractérisées par la variation par année de l'aire valvulaire aortique – Aire\_N).**  
R=coefficient de corrélation.



**Figure 22: Associations univariées des biomarqueurs plasmatiques avec la progression de la SVA (caractérisées par la variation par année de l'aire valvulaire aortique indexée – AireInd\_N).**  
R=coefficient de corrélation.

## 5. Statut actuel de l'étude VALID-ACTION

À l'heure actuelle, les 53 participants prévus pour l'étude ont déjà été recrutés et les échantillons sanguins ont été traités immédiatement (méthode actuelle de la Biobanque) ou après un entreposage à 4°C de 4h, 24h ou 72h (ancienne méthode de la Biobanque; voir détails dans la section 5 des Méthodes Détaillées).

Les biomarqueurs plasmatiques d'intérêt définis seront mesurés prochainement pour les 4 conditions de traitement. Nous allons ensuite comparer les valeurs obtenues pour les échantillons « méthode actuelle » (contrôle) et les valeurs obtenues pour les échantillons « ancienne méthode » avec les différents temps d'entreposage. Nous analyserons également l'effet du temps d'entreposage des spécimens à 4°C avant traitement dans la stabilité des biomarqueurs évalués.

Si l'étude VALID-ACTION arrive à la conclusion qu'il n'y a pas de différences significatives dans les mesures des biomarqueurs plasmatiques évalués par la présente étude entre les différentes méthodes de traitement, nous compléterons alors l'analyse de l'association des biomarqueurs plasmatiques d'intérêt *versus* la présence et la progression de la SVA avec les 172 échantillons de notre cohorte qui étaient recueillis selon l'ancienne méthode de la Biobanque. Nous obtiendrons alors des analyses plus puissantes que les analyses partielles réalisées jusqu'à présent et serons ainsi en mesure de valider et approfondir les résultats préliminaires présentés dans ce chapitre.



## Discussion

Dans la première étape de cette étude, nous avons déterminé le taux de progression échocardiographique annuel de la SVA dans une population ethniquement homogène de 126 patients affectés par cette pathologie. Tous les sujets analysés avaient une seule étiologie pour la maladie: SVA dégénérative sur valve tricuspide. Nous avons ensuite évalué plusieurs caractéristiques cliniques et échocardiographiques et 1 polymorphisme génétique quant à leur capacité de prédire l'évolution de la SVA dans cette population spécifique. À partir d'analyses multivariées, nous avons identifié 5 prédicteurs cliniques et échocardiographiques indépendants de la progression de la SVA: fréquence cardiaque (FC) de repos, présence de diabète (Db), gradient transvalvulaire aortique moyen de base, utilisation de statines et présence de régurgitation aortique. Des interactions significatives ont été observées pour la FC avec l'âge et le sexe, indiquant que la FC pourrait prédire la progression de la SVA seulement pour les patients plus âgés et pour les hommes. Une interaction significative entre Db et le sexe a également été rencontrée, impliquant un effet prédicteur du Db en relation à la progression de la SVA exclusivement chez les hommes.

La deuxième étape de cette étude a consisté à analyser l'association de plusieurs biomarqueurs plasmatiques avec la présence et la progression de la SVA. Pour l'analyse d'association avec la présence de SVA, nous avons sélectionné 126 témoins sans SVA appariés aux 126 cas avec SVA par des critères cliniques d'intérêt (âge, sexe, tabagisme, MCAS, hypertension, diabète, dyslipidémie, utilisation de statines). Jusqu'à présent, la mesure des biomarqueurs plasmatiques n'a pu être réalisée que dans un sous-groupe de 80 patients (43 cas et 37 témoins) sur les 252 de la population totale. L'association des biomarqueurs plasmatiques *versus* la présence et la progression de la SVA a donc pu être évaluée par des analyses univariées uniquement. Néanmoins, des associations univariées préliminaires intéressantes ont déjà pu être observées.

Concernant la présence de SVA, nous avons observé des associations univariées significatives (ou des tendances à la significativité) avec la concentration plasmatique des biomarqueurs reliés au syndrome métabolique (HDL, glucose, triglycérides), au métabolisme

des lipides (apoB, ratio apoB/apoA-I, Lp(a)), à la fonction rénale (créatinine, taux de filtration glomérulaire), à la dysfonction endothéliale (ADMA) et à l'altération du myocarde (troponine T-HS).

Concernant la progression de la SVA, la rapidité de l'évolution était significativement associée (ou présentait une forte tendance à la significativité) avec les valeurs plasmatiques de base indiquant un syndrome métabolique (glucose, insuline et triglycérides élevés), des processus de calcification élevés (ostéopontine élevée), une dysfonction rénale (créatinine élevée, taux de filtration glomérulaire bas), des altérations du métabolisme hépatique (ADMA élevée, GGT bas) et de l'inflammation (CRP élevée). La rapidité de l'évolution de la SVA était inversement associée avec les valeurs plasmatiques de base de HDL et de LP(a).

Finalement, afin d'évaluer avec certitude si nous pouvons utiliser les échantillons de plasma de toute la cohorte, nous avons proposé et développé un projet complémentaire destiné à vérifier la validité des échantillons recueillis selon l'ancienne méthode de prélèvement de la Biobanque: l'étude VALID-ACTION.

## **1. Progression échocardiographique de la SVA et associations multivariées significatives des caractéristiques cliniques et échocardiographiques avec cette progression**

### **1.1 Progression échocardiographique de la SVA**

L'évaluation standard de la sévérité de la SVA par l'échocardiographie inclue comme mesures principales la vitesse transvalvulaire aortique maximale, le gradient transvalvulaire aortique moyen et l'AVA par l'équation de continuité (Otto CM, 2013). Afin de prendre en compte les différences de taille entre les patients, nous avons également déterminé la mesure de l'AVA indexée (Baumgartner H *et al.*, 2009). La progression de la SVA a donc été caractérisée comme la variation par année de ces 4 paramètres échocardiographiques d'intérêt.

Les données de la littérature évaluant la progression échocardiographique de la SVA rapportent une augmentation moyenne annuelle de la vitesse transvalvulaire aortique maximale de 0,2-0,4 m/s et du gradient transvalvulaire aortique moyen de 8 mmHg, et une diminution moyenne annuelle de l'AVA de 0,15 cm<sup>2</sup> (Otto CM & Bonow RO, 2010). Dans la présente étude, les variations annuelles moyennes par année pour chaque paramètre d'intérêt étaient plus faibles que les moyennes décrites ci-dessus: augmentation annuelle de 0,14 m/s pour la vitesse transvalvulaire aortique maximale et de 4,06 mmHg pour le gradient transvalvulaire aortique moyen, et diminution annuelle de 0,07 cm<sup>2</sup> pour l'AVA. Le fait que les variations annuelles des paramètres échocardiographiques d'intérêt rencontrées dans cette étude ont été plus faibles que la moyenne des études antérieures sur le sujet pourrait être dû à l'importante variabilité individuelle des valeurs observées entre ces études. Également, la plus grande partie des études analyse ensemble des SVA de différentes étiologies (SVA dégénérative sur valve tricuspide, sur valve bicuspidie et d'origine rhumatismale) et décrit rarement l'ethnie des populations évaluées (Bahler RC *et al.*, 1999; Brener SJ *et al.*, 1995; Chan KL *et al.*, 2010; Faggiano P *et al.*, 1992; Moura LM *et al.*, 2007; Novaro GM *et al.*, 2001; Otto CM *et al.*, 1997; Otto CM *et al.*, 1989; Peter M *et al.*, 1993; Roger VL *et al.*, 1990; Rosenhek R *et al.*, 2000; Rosenhek R *et al.*, 2004b; Rossebø AB *et al.*, 2008; Wakabayashi K *et al.*, 2011; Yamamoto K *et al.*, 2010). Or, la présence de valve aortique bicuspidie semble favoriser la progression de la SVA (Otto CM, 2008). De plus, il a été montré que la vitesse de progression de la SVA varie en fonction de l'ethnie de la population évaluée (Novaro GM *et al.*, 2007; Yamamoto K *et al.*, 2010). De ce fait, la plus lente progression de la SVA rencontrée dans notre étude pourrait également être due à la forte homogénéité de notre population de patients (homogénéités étiologique (SVA dégénérative sur valve tricuspide) et ethnique (100% caucasienne dont 84,1% canadienne-française)).

## **1.2 Associations multivariées significatives des caractéristiques cliniques et échocardiographiques avec la progression de la SVA**

Une discussion détaillée sur les associations multivariées significatives des caractéristiques cliniques et échocardiographiques avec la progression de la SVA rencontrées lors de la première étape de cette étude est déjà disponible dans la section Discussion de l'Article Scientifique.

## **2. Associations univariées significatives des biomarqueurs plasmatiques avec la présence et la progression de la SVA**

### **2.1 Les niveaux plasmatiques plus élevés d'HDL sont inversement associés à la présence et à la progression de la SVA**

Dans cette étude, la concentration plasmatique de HDL a été significativement associée à la présence de SVA d'une manière inverse: une concentration sérique plus élevée d'HDL correspondrait à un moindre risque de présenter une SVA. De la même façon, les niveaux plus élevés d'HDL ont été associés à une progression plus lente de la SVA.

Plusieurs études cliniques et épidémiologiques ont démontré une relation inverse et indépendante entre les niveaux sériques d'HDL et le risque de maladies cardiovasculaires. Les effets cardioprotecteurs des HDL sont attribués à divers mécanismes, notamment leur implication dans le transport inverse du cholestérol, leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anti-thrombotiques, et leur capacité à promouvoir la réparation endothéliale (Florentin M *et al.*, 2008). De ce fait, nous pouvons raisonnablement émettre l'hypothèse d'un rôle protecteur des HDL dans le contexte de la SVA. À partir de valves aortiques humaines explantées, Lommi *et al* ont rapporté que la concentration en HDL est diminuée dans les valves atteintes par la SVA par rapport aux valves normales (Lommi JI *et al.*, 2011). *In vitro*, ces auteurs ont montré que les HDL induisent la sécrétion d'ostéoprotégérine et diminuent l'expression de TNF- $\alpha$  (Lommi JI *et al.*, 2011). Comme l'ostéoprotégérine et le TNF- $\alpha$  sont

connus respectivement pour inhiber et activer la calcification valvulaire, les HDL pourraient avoir un effet anti-calcifiant dans les valves humaines. Dans une étude chez des patients avec SVA, Yilmaz *et al* ont démontré que les niveaux sériques d'HDL étaient significativement plus élevés parmi les patients ayant une progression lente de la SVA par rapport aux patients ayant une progression rapide de la SVA, et que le ratio cholestérol total/HDL était indépendamment associé à la progression de la SVA (définie comme la variation par année du gradient transvalvulaire aortique maximal) dans des analyses multivariées (Yilmaz MB *et al.*, 2004).

Les résultats expérimentaux obtenus par notre groupe de recherche sur des modèles animaux renforcent ce concept. Nous avons rapporté une augmentation de l'AVA couplée à une diminution de l'épaisseur et de la calcification des valves aortiques sténotiques suite à l'infusion d'un peptide mimétique de l'apoA-I dans un modèle de lapin (Busseuil D *et al.*, 2008). Plus récemment, à partir de 2 modèles de souris avec SVA, l'un centré sur la calcification de la valve (souris apoE<sup>-/-</sup>) et l'autre sur la fibrose de la valve (souris Wrn<sup>Δhel/Δhel</sup>), nous avons également observé une augmentation de l'AVA suite à l'infusion de ce même mimétique de l'apoA-I, associé à une diminution de l'épaisseur de la paroi de la racine aortique (Trapeaux J *et al.*, 2013). De plus, par un modèle numérique 3D de valve aortique de souris nous avons confirmé que cette diminution d'épaisseur de la racine aortique est associée avec l'augmentation de l'AVA (Trapeaux J *et al.*, 2013). Cette étude laisse entrevoir l'amélioration de l'élasticité de la racine aortique comme un mécanisme à travers lequel les HDL contribueraient à la diminution de la progression de la SVA.

Toutefois, notre groupe viens de publier une étude du type cas-témoin où l'analyse des polymorphismes génétiques reliés aux HDL et quelques caractéristiques fonctionnelles des HDL (notamment leur implication dans le transport inverse du cholestérol) *versus* le risque de SVA n'a pas rencontré des différences significatives entre les cas et les témoins (Arsenault BJ *et al.*, 2014a). *A priori*, ces résultats suggèrent que, basé sur la génétique et fonctionnalité des HDL, le métabolisme des HDL ne pourrait pas prédire le risque de SVA. Il faut cependant souligner que les effets anti-athérogéniques des HDL sont également attribués à des mécanismes autres que le transport inverse du cholestérol (tels que leur capacité d'inhiber l'oxydation des LDL, d'améliorer la fonction endothéliale et d'inhiber l'inflammation dans la

paroi vasculaire) (deGoma EM *et al.*, 2008), lesquels n'ont pas été évalués dans notre étude. En outre, nous n'avons pas évalué les probables propriétés des HDL spécifiques à la valve aortique, comme l'induction d'ostéoprotégérine et l'inhibition de TNF- $\alpha$  (Lomni JT *et al.*, 2011). Finalement, peu de polymorphismes génétiques associés avec la fonctionnalité des HDL ont été identifiés à l'heure actuelle (Arsenault BJ *et al.*, 2014a). Il est possible que l'association des concentrations plasmatiques plus élevées d'HDL-C avec une progression plus lente de la SVA observée dans la présente étude puisse être le résultat de polymorphismes génétiques qui pourraient être associés à des propriétés anti-athérogéniques des HDL. Ainsi, l'hypothèse d'un effet protecteur de l'HDL dans le contexte de la SVA reste à considérer.

## **2.2 Les niveaux plasmatiques plus élevés de glucose et de triglycérides sont associés à la présence et à une progression plus rapide de la SVA. Les niveaux plasmatiques plus élevés d'insuline sont associés à une progression plus rapide de la SVA.**

La concentration plasmatique de glucose a montré une association positive significative avec la présence de la SVA (tendance non significative pour les triglycérides,  $p=0,082$ ) et les concentrations plasmatiques de glucose, d'insuline et de triglycérides ont montré une association positive significative avec une progression rapide de la SVA.

Plusieurs études ont évalué l'association entre le diabète et la présence de SVA (Aronow WS *et al.*, 1987; Deutscher S *et al.*, 1984; Freeman RV & Otto CM, 2005; Lindroos M *et al.*, 1994; Stewart BF *et al.*, 1997) et deux entre le diabète et la progression de la SVA (Aronow WS *et al.*, 2001; Kamalesh M *et al.*, 2009). Dans notre étude, nous avons également retrouvé une association significative et indépendante aux analyses multivariées entre le diabète et une progression plus rapide de la SVA. Nous avons donc émis l'hypothèse que des biomarqueurs plasmatiques du métabolisme glycémique comme le glucose, l'insuline et l'hémoglobine glyquée puissent être des marqueurs indépendants pour prédire la présence et la progression de la SVA. À notre connaissance, aucune étude présente dans la littérature n'a décrit la relation de ces biomarqueurs *versus* la présence et la progression de la SVA. Dans notre étude, nous avons observé que les concentrations plasmatiques plus élevées de glucose

étaient significativement associées à la présence et à la progression plus rapide de la SVA. Cette observation est d'autant plus intéressante que cette relation est significative alors même qu'il n'y a pas de différence du nombre de patients diabétiques entre les cas et les témoins, et que le glucose n'a pas été mesuré à jeun.

La concentration plasmatique d'insuline a été significativement associée avec une progression plus rapide de la SVA par 3 paramètres échocardiographiques (variation par année du gradient transvalvulaire aortique moyen, de l'AVA et de l'AVA indexée). En revanche, nous n'avons pas observé d'association significative entre la concentration plasmatique d'insuline et la présence de SVA. Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que les prélèvements sanguins n'ont pas été effectués à jeun, ce qui pourrait être responsable de la grande variabilité des valeurs interindividuelles observée (moyenne de  $250,5 \pm 257,8$  pmol/L chez les cas *versus*  $192,0 \pm 234,6$  pmol/L chez les témoins) réduisant ainsi l'éventuelle capacité de l'insuline à prévoir la présence de la SVA. Toutefois, l'association de l'insuline avec la progression de la SVA laisse entrevoir que ce biomarqueur pourrait tout de même avoir un rôle dans l'évaluation de la progression de la SVA.

Contrairement au glucose et à l'insuline, l'hémoglobine glyquée n'a été significativement associée ni à la présence ni à la progression de la SVA. Ce biomarqueur, aussi connu comme HbA1c, est le résultat d'une glycation non-enzymatique irréversible de l'hémoglobine suite à son exposition au glucose plasmatique. Le taux circulant d'hémoglobine glyquée est alors proportionnel au niveau plasmatique de glucose et à la durée de vie des érythrocytes, et est ainsi utilisé comme marqueur rétrospectif (120 jours) de la glycémie des patients (Larsen ML *et al.*, 1990; Leters-Westra E *et al.*, 2013). L'impact des différences dans la durée de vie moyenne des érythrocytes pour la mesure de l'HbA1c peut être significatif: pour un contrôle glycémique similaire, les patients ayant des érythrocytes avec un cycle de vie de 35 jours auront une HbA1c plus basse que ceux dont les érythrocytes ont un cycle de vie de 59 jours (Cohen RM *et al.*, 2008). Cette variation pourrait jouer un rôle dans l'absence d'association entre l'HbA1c *versus* la présence et la progression de la SVA. Il est également possible que l'absence d'association entre l'hémoglobine glyquée et la présence et la progression de la SVA soit due à la taille réduite de notre échantillon.

Finalement, une concentration plasmatique élevée de triglycérides a eu une tendance à l'association avec la présence et a été significativement associée avec une progression rapide de la SVA. Sachant que les concentrations sériques élevées de triglycérides font partie intégrante du diagnostic du syndrome métabolique (Alberti KGMN *et al.*, 2006), ce résultat est cohérent avec les données de la littérature. En effet, Katz R *et al* ont montré que le risque d'avoir une calcification valvulaire aortique (évaluée par tomodensitométrie) était plus important chez les patients diabétiques ou présentant un syndrome métabolique (Katz R *et al.*, 2006). Dans une étude prospective, ce même groupe a également montré que le syndrome métabolique et le diabète sont significativement associés avec la calcification valvulaire aortique (Katz R *et al.*, 2009). De plus, à partir d'études rétrospective (Briand M *et al.*, 2006) et prospective (Capoulade R *et al.*, 2012a), il a été démontré une association significative entre le syndrome métabolique et la progression de la SVA. L'association entre les concentrations plasmatiques élevées de triglycérides et la progression rapide de la SVA observée dans notre étude est d'autant plus intéressante que les autres composantes du syndrome métabolique (concentrations plasmatiques basses en HDL, et élevées en glucose et insuline, tour de taille anormal) ont également démontré des associations significatives avec la présence et/ou la progression de la SVA. Par conséquent, la présente étude contribue à l'avancement des connaissances sur le sujet en suggérant que les composantes du syndrome métabolique pourraient être individuellement associées avec la présence et/ou la progression de la SVA.

### **2.3 Les niveaux plasmatiques plus élevés d'apoB ont une tendance à l'association avec la présence de SVA**

Il n'y a pas eu de différences significatives entre les cas et les témoins concernant la concentration plasmatique de LDL. Toutefois, il y avait une tendance à une concentration plasmatique plus élevée de l'apoB (composante protéique principale des LDL) parmi les cas. Également, une tendance à la hausse du ratio entre l'apoB et l'apoA-I (apoB/apoA-I) a été observée chez les cas par rapport aux témoins. En revanche, aucune association significative ou tendance n'a été observée concernant l'apoB ou le ratio apoB/apoA-I *versus* la progression de la SVA.



Avakian *et al* (2001) ont trouvé une fréquence plus élevée du polymorphisme XbaI du gène codant pour l'apoB chez les patients atteints de SVA. O'Brien *et al* (1996) avaient déjà décrit la présence d'apoB dans les valves aortiques sténotiques et ont ensuite démontré que l'apoB se colocalise avec l'ECA sur ces valves (O'Brien KD *et al.*, 2002). Enfin, Côté *et al* (2008) ont observé que les patients SVA ayant des niveaux sériques élevés de LDL-oxydées présentaient plus de remodelage tissulaire dans la valve aortique. De plus, ces niveaux sériques de LDL-oxydées étaient significativement associés avec les niveaux sériques d'apoB et de triglycérides (Côté C *et al.*, 2008). Ainsi, il serait raisonnable de s'attendre à une association entre les niveaux sériques d'apoB *versus* la présence et la progression de la SVA. Cependant, la relation des niveaux sériques de cholestérol avec la présence et/ou la progression de la SVA reste douteuse, avec des études qui ont rapporté des associations significatives (Messika-Zeitoun D *et al.*, 2007; Aronow WS *et al.*, 2001; Palta S *et al.*, 2000; Nassimiha D *et al.*, 2007) et d'autres non (Bellamy MF *et al.*, 2002; Cowell SJ *et al.*, 2005; Rossebo AB *et al.*, 2008; Chan KL *et al.*, 2010). Dans le cas de notre étude, il est donc nécessaire de confirmer ou d'infirmer cette tendance en augmentant la taille de notre population par la mesure des échantillons manquants.

#### **2.4 Les niveaux plasmatiques plus élevés de Lp(a) ont une tendance à l'association avec la présence de SVA mais sont significativement associés à une progression plus lente de la SVA**

La Lp(a) est une particule riche en cholestérol, formée par l'apoB 100 et l'apoA. Il a été décrit que la Lp(a) est impliquée dans la maladie coronarienne, notamment en se déposant dans la couche intima des vaisseaux (Kreuzer J *et al.*, 1994) et ce, préférentiellement dans les aires de lésions mécaniques (Nielsen LB *et al.*, 1996). Au niveau de la valve aortique, il a été démontré que la Lp(a) s'accumule au niveau des lésions valvulaires aortiques (aussi bien aux stades initiaux qu'avancés) et qu'elle se co-localise avec les dépôts de calcium.

Des associations significatives entre des niveaux sériques plus élevés de Lp(a) et la présence de SVA avaient été démontrées (Bozbas H *et al.*, 2008; Glader CA *et al.*, 2003). Très récemment, des études basées sur de grandes cohortes ont décrit des associations significatives entre un polymorphisme génétique du gène LPA (SNP rs10455872) et le risque de

calcification de la valve aortique (Thanassoulis G *et al.*, 2013), ainsi qu'entre des polymorphismes génétiques du gène LPA (SNPs rs10455872 et rs3798220), accompagnés des niveaux sériques élevés de Lp(a), et le risque de manifester une SVA (Kamstrup PR *et al.*, 2013; Arsenault BJ *et al.*, 2014b).

Dans la présente étude, nous avons rencontré une tendance à une proportion plus élevée de l'allèle mineur du SNP rs10455872 parmi les cas par rapport aux témoins ( $p=0.11$ ). Également, nous avons observé une faible tendance à une concentration plasmatique de Lp(a) plus élevée chez les cas *versus* les témoins ( $p=0.183$ ). Malgré le manque encore de significativité statistique (qui devrait pouvoir être obtenue en augmentant la taille de notre échantillon), ces résultats sont cohérents avec les données actuelles de la littérature. Toutefois, de manière surprenante et paradoxale, les analyses univariées ont révélé une association significative (variation par année du gradient transvalvulaire aortique moyen) et des tendances à la significativité (variation par année de la vitesse transvalvulaire aortique maximale, de l'AVA et de l'AVA indexée) entre la concentration plasmatique élevée de Lp(a) et une évolution plus lente de la SVA.

Nous nous sommes donc demandés comment des niveaux sériques plus élevés de Lp(a) pouvaient être associés à la fois à un risque plus grand de présenter une SVA et à une progression plus lente de la SVA et avons ainsi établi un parallèle avec la protéine Gla de la matrice (*matrix Gla protein – MGP*). En effet, sous sa forme phosphorylée, la MGP a une grande affinité pour les dépôts calciques de la valve aortique sténotique, conduisant ainsi à une augmentation de sa concentration au niveau de la valve aortique et à une diminution de sa concentration sérique. Inversement, sous ses formes non-phosphorylées, la MGP n'a pas d'affinité pour le calcium, ce qui diminue ainsi sa présence au niveau de la valve aortique et augmente sa concentration sérique (Ueland T *et al.*, 2010). Nous émettons ainsi l'hypothèse que la Lp(a) pourrait avoir un comportement similaire à celui de la MGP phosphorylée: les dépôts calciques plus nombreux avec la sévérité de la SVA augmenteraient l'affinité et le dépôt de la Lp(a) au niveau de la valve aortique, réduisant ainsi les niveaux sériques de Lp(a). Cette hypothèse pourrait expliquer le fait que les niveaux sériques de Lp(a) soient plus élevés parmi les cas comparativement aux témoins, mais soient inversement associés à la progression de la SVA en prenant seulement en compte les patients avec SVA. Cet argument est renforcé

par la corrélation négative que nous avons rencontrée entre les niveaux sériques de Lp(a) et les valeurs de base des paramètres échocardiographiques (données non décrites).

Toutefois, il est important de remarquer que les résultats mentionnés ci-dessus ont été obtenus à partir d'un petit sous-groupe de patients de la cohorte totale et que, jusqu'à présent, seules des analyses univariées ont pu être réalisées. Il est ainsi probable que le comportement paradoxal de l'association directe de la Lp(a) avec la présence de SVA et inverse avec la progression de la SVA puisse s'expliquer simplement pour un manque de puissance statistique de l'échantillon évalué.

## **2.5 Les niveaux plasmatiques de créatinine plus élevés sont associés avec la présence et une progression plus rapide de la SVA. Les niveaux du taux de filtration glomérulaire plus élevés sont associés avec l'absence et une progression plus lente de la SVA.**

La fonction rénale peut être déterminée à partir des concentrations sériques (ou plasmatique) des substances résiduelles comme la créatinine et l'urée ou, d'une manière plus précise, à partir du taux de filtration glomérulaire (*glomerular filtration rate – GFR*), qui représente la quantité de liquide filtré par les reins dans le temps (Stevens LA *et al.*, 2006).

Le GFR peut être estimé à partir de la concentration sérique (ou plasmatique) de créatinine et d'autres variables par plusieurs formules; la plus utilisée actuellement étant l'équation développée par l'Étude de modification de la diète dans la maladie rénale (*Modification of diet in renal disease - MDRD study*) (Levey AS *et al.*, 2006):

**$GFR (mL/min/1,73 m^2) = 175 \times (SCr/88,4)^{-1,154} \times (\text{âge})^{-0,203} \times (0,742 \text{ si femme}) \times (1,212 \text{ si race noire})$** ; les concentrations sériques (ou plasmatiques) de créatinine (Scr) sont exprimées en  $\mu\text{mol/L}$ .

On remarque à partir de l'équation ci-dessus que les valeurs de la concentration sérique (ou plasmatique) de créatinine et le GFR sont inversement proportionnels. Ainsi, comme attendu, ces 2 biomarqueurs de la fonction rénale ont montré des associations significatives inverses l'une par rapport à l'autre avec la présence et la progression de la SVA: les

concentrations sériques élevées de créatinine et les GFR bas étaient associés à une progression plus rapide de la SVA, et inversement.

Il est connu que la calcification de la valve aortique a lieu plus fréquemment et à un plus jeune âge chez les individus ayant une dysfonction rénale terminale par rapport à ceux ayant une fonction rénale normale. De plus, chez ces patients avec dysfonction rénale, la calcification de la valve aortique évolue plus communément et plus rapidement vers les formes les plus sévères de SVA que dans la population générale. L'administration de supplément calcique aux patients dialysés pourrait avoir un rôle dans ce processus chez cette population (Umana E *et al.*, 2003). Ainsi, Bahler *et al* ont montré que les patients avec une SVA de progression rapide étaient significativement plus nombreux à présenter des niveaux sériques anormalement élevés de créatinine, par rapport aux patients ayant une SVA de progression lente (Bahler RC *et al.*, 1999). Toutefois, les niveaux sériques de créatinine n'ont pas montré d'association significative avec la progression de la SVA (définie comme la variation/année de l'AVA) aux analyses multivariées. Des niveaux sériques de créatinine plus élevés ont d'ailleurs été rapportés chez les patients avec SVA caractérisés comme « progressseurs rapides » (Palta S *et al.*, 2000). Cependant, contrairement à l'étude précédemment citée, ces niveaux de créatinine restaient en moyenne dans l'intervalle de concentration considéré comme normal. Ces mêmes auteurs ont également rapporté une tendance à la significativité concernant l'association des concentrations sériques de créatinine avec la progression de la SVA (définie comme la variation/année de l'AVA) aux analyses multivariées (Palta S *et al.*, 2000).

Dans notre étude, les niveaux plasmatiques moyens de créatinine étaient plus élevés chez les cas que les témoins mais restaient dans l'intervalle normal pour les 2 groupes. Le GFR des cas était significativement plus faible que celui des témoins et était légèrement au-dessous de la normale (58,11 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>; la normale étant  $\geq 60$  mL/min/1,73 m<sup>2</sup>). Nous constatons donc que les associations significatives rencontrées entre les biomarqueurs de la fonction rénale *versus* la présence et la progression de la SVA sont présentes non seulement pour des valeurs anormales des biomarqueurs mais également pour des valeurs des biomarqueurs considérées comme normales ou légèrement altérées. Si ces observations se confirment après l'augmentation de la taille de l'échantillon et des analyses multivariées, elles pourraient avoir un grand intérêt en favorisant les biomarqueurs sériques de la fonction rénale

(biomarqueurs communément demandés, avec un coût accessible et faciles à obtenir) comme des outils pour le perfectionnement du suivi clinique de la SVA.

## **2.6 Les niveaux plasmatiques plus élevés d'ostéopontine sont associés à une progression plus rapide de la SVA**

L'ostéopontine est une glycophosphoprotéine multifonctionnelle plus connue pour sa fonction régulatrice du remodelage osseux. Elle y joue un rôle crucial pour la différenciation et la stimulation des ostéoclastes. En dehors de sa fonction dans le tissu osseux natif, l'ostéopontine est aussi impliquée dans une variété de processus inflammatoires aigus et chroniques (notamment la cicatrisation des plaies, la fibrose et l'athérosclérose) et dans la biominéralisation des sites dystrophiques et ectopiques comme le tissu valvulaire aortique (Cho HJ *et al.*, 2009). Au niveau de la valve aortique, l'ostéopontine (ainsi que d'autres protéines impliquées dans les processus de calcification) est exprimée localement par des ostéoblastes provenant de la trans-différenciation phénotypique de myofibroblastes cellulaires (Otto CM & Bonow RO, 2010).

Yu *et al* ont montré que les niveaux sériques d'ostéopontine étaient significativement plus élevés parmi les cas avec SVA que parmi les témoins sans SVA, avec une augmentation plus importante pour les patients SVA ayant une calcification valvulaire aortique de type modérée/sévère par rapport à ceux ayant une calcification valvulaire aortique non-présente ou légère (Yu PJ *et al.*, 2009). Les niveaux sériques d'ostéopontine présentaient une corrélation directe et significative avec les degrés de calcification de la classification proposée par Rosenhek (Rosenhek R *et al.*, 2000) et augmentaient graduellement avec le degré de sévérité de la pathologie (classée selon: aucune maladie valvulaire aortique, sclérose valvulaire aortique, SVA) (Grau JB *et al.*, 2012). À notre connaissance, aucune étude disponible dans la littérature n'a évalué la relation entre l'ostéopontine et la progression de la SVA, définie comme la variation par année des paramètres échocardiographiques d'intérêt.

Dans notre étude, nous n'avons pas rencontré de différences significatives pour les niveaux plasmatiques d'ostéopontine entre les cas et les témoins. La mesure des biomarqueurs

plasmatiques n'ayant été réalisée que sur une sous-population de notre étude, un défaut d'appariement entre les cas et les témoins de cette sous-population pourrait expliquer cette observation négative. En effet, il y avait une tendance à avoir plus de patients avec MCAS parmi les témoins que parmi les cas (37,8% *versus* 23,3%,  $p=0,156$ ). L'ostéopontine étant aussi impliquée dans l'athérosclérose, ce déséquilibre entre cas et témoins pour le facteur MCAS a pu masquer l'association entre les niveaux plasmatiques d'ostéopontine et la présence de SVA dans notre étude. Toutefois, en évaluant seulement les cas avec SVA, notre étude a décrit pour la première fois une association univariée significative entre des niveaux plasmatiques plus élevés d'ostéopontine et une progression plus rapide de la SVA (exprimée par la variation/année de la vitesse transvalvulaire aortique maximale). Bien que cette observation initiale nécessite confirmation avec un échantillon plus large et la réalisation d'analyses multivariées, elle pourrait avoir le potentiel d'inspirer des recherches plus variées et poussées de l'ostéopontine dans le contexte de la SVA, autant au niveau de son rôle physiopathologique que de son utilisation dans le suivi clinique de la maladie.

## **2.7 Les niveaux plasmatiques plus élevés de dyméthylarginine asymétrique sont associés avec une progression plus rapide de la SVA.**

L'ADMA est un inhibiteur physiologique de l'enzyme de synthèse de l'oxyde nitrique (*nitric oxide – NO synthase*) et est utilisée en tant que marqueur, médiateur et régulateur de la dysfonction endothéliale (Vallance P *et al.*, 1992).

Ngo *et al* ont été les premiers à évaluer la relation entre l'ADMA et la SVA et, bien que leurs analyses univariées n'aient pas montré de différences significatives des niveaux sériques d'ADMA entre les cas avec SVA et les témoins, leurs analyses multivariées révélaient une association significative entre le diagnostic de SVA (variable indépendante) et des niveaux plus élevés d'ADMA (variable dépendante) (Ngo DT *et al.*, 2007). Les niveaux d'ADMA et la sévérité de la SVA sont également corrélés positivement (Cagirci G *et al.*, 2010). De manière paradoxale, notre étude révèle des niveaux plasmatiques d'ADMA plus élevés chez les témoins que chez les cas. Cependant, il a déjà été démontré des associations significatives entre des niveaux élevés d'ADMA et la présence de MCAS ou avec un pronostic plus sombre dans le contexte de la MCAS (Lu TM *et al.*, 2011). Ainsi, tel que discuté

précédemment pour l'ostéopontine, nous spéculons que ce résultat paradoxal est dû au déséquilibre d'appariement concernant la présence de MCAS entre les cas et les témoins de la sous-population à partir de laquelle les mesures des biomarqueurs plasmatiques ont été réalisées.

Concernant l'étude des niveaux plasmatiques d'ADMA vis-à-vis de la progression de la SVA, notre étude est la première à décrire une association significative entre des niveaux plus élevés d'ADMA et une progression plus rapide de la SVA (variation/année de l'AVA et de l'AVA indexée). Cette observation, bien que préliminaire et seulement obtenue à partir d'analyses univariées, pourrait justifier une exploration plus approfondie de la dysfonction endothéliale au sein de la SVA pour la recherche de nouveaux outils de suivi et de nouvelles options thérapeutiques.

## **2.8 Les niveaux plasmatiques plus élevés de la protéine C réactive (*C-reactive protein* : *CRP*) présentent une tendance à l'association avec une progression plus rapide de la SVA**

La CRP appartient à la classe des protéines de phase aiguë. Elle est principalement libérée par les adipocytes hépatiques en réponse à une grande variété de processus inflammatoires (infections, athérosclérose, maladies auto-immunes). Bien que non spécifique, la CRP constitue un marqueur très utile pour évaluer l'activité inflammatoire dans l'organisme (Hirschfield GM & Pepys MB, 2003).

La composante inflammatoire jouant un rôle important dans le processus physiopathologique de la SVA (Otto CM, 2008), des études ont tenté de vérifier la relation entre les niveaux sériques de CRP et la SVA. Ainsi, les niveaux sériques de CRP ont été rapportés comme significativement plus élevés parmi des patients avec SVA sévère en comparaison avec des témoins sans SVA (Galante A *et al.*, 2001). Toutefois, il n'y a pas eu de corrélations significatives entre les niveaux de CRP et des paramètres échocardiographiques de base comme la vitesse transvalvulaire aortique maximale, l'AVA et le niveau de calcification valvulaire aortique (Galante A *et al.*, 2001). Concernant l'association avec l'évolution de la SVA, 2 études ont décrit des niveaux sériques de CRP plus élevés parmi les patients ayant une progression rapide de la SVA *versus* ceux ayant une progression lente (Imai

K *et al.*, 2008; Sanchez PL *et al.*, 2006). De plus, il a également été retrouvé une association des niveaux sériques de CRP avec la sévérité et le pronostic de la SVA (Imai K *et al.*, 2008). Cependant, dans une grande cohorte de 5 621 patients, les niveaux sériques de CRP n'ont pas présenté d'associations significatives avec la progression de la SVA définie comme le développement de sclérose valvulaire aortique ou de SVA à partir d'une valve normale ou le développement de SVA à partir d'une valve avec sclérose valvulaire aortique (Novaro GM *et al.*, 2007).

Dans la présente étude, nous n'avons pas trouvé d'association significative entre les niveaux plasmatiques de CRP et la présence de SVA. Nous avons cependant retrouvé des tendances à la significativité concernant l'association des niveaux plasmatiques plus élevés de CRP et une progression plus rapide de la SVA (variation/année de la vitesse transvalvulaire aortique maximale, de l'AVA et de l'AVA indexée). Par ailleurs, c'est la première description d'une tendance à l'association des niveaux plasmatiques de CRP avec la progression de la SVA définie de cette façon (variation/année des paramètres échocardiographiques d'intérêt).

Ainsi, le rôle des niveaux plasmatiques de CRP dans le contexte de la SVA reste à clarifier, surtout concernant leur association avec la progression de la SVA pour laquelle les données de la littérature sont même contradictoires. Ces résultats peuvent être dus au caractère non-spécifique de la CRP, où toutes les conditions inflammatoires conduisent à une augmentation des taux de CRP, rendant difficile l'évaluation de ce marqueur comme un prédicteur du comportement de la SVA. Toutefois, si la tendance à l'association entre des niveaux plus élevés de CRP et une progression plus rapide de la SVA à l'échocardiographie se confirmait après augmentation de la taille de notre échantillon de population, la mesure de la CRP sérique pourrait être envisagée comme facteur paramètre supplémentaire à évaluer pour aider à prévoir l'évolution de la SVA chez un patient spécifique.

## **2.9 Les niveaux plasmatiques plus élevés de gamma-glutamyl transférase ont une tendance à l'association avec une progression plus lente de la SVA**

Bien que considérée comme étant une enzyme hépatique et fréquemment utilisée en clinique comme un marqueur de la dysfonction hépato-biliaire et l'abus d'alcool, la GGT est



physiologiquement retrouvée dans la membrane cellulaire plasmaticque de nombreux tissus (y compris les reins, les voies biliaires, le pancréas, le foie, la rate, le cœur, le cerveau) où elle joue un rôle anti-oxydant *via* le clivage du glutathion (Whitfield JB, 2001).

Une association significative a été démontrée entre des niveaux sériques plus élevés de GGT et la présence de SVA (Bozbas H *et al.*, 2008). Dans notre étude, nous n'avons cependant pas trouvé d'association entre des niveaux plasmatiques de GGT et la présence de SVA et, de façon paradoxale, nous avons même observé une tendance à la significativité pour l'association entre des niveaux plus élevés de GGT et une progression plus lente de la SVA. Toutefois, il a été montré que l'activité totale de la GGT dans le tissu valvulaire aortique corrélait négativement avec l'extension de la calcification et que les niveaux tissulaires et plasmatiques de GGT présentaient une corrélation négative avec la sévérité de la SVA (définie par le gradient transvalvulaire aortique maximal) (Capelli *et al.*, 2010). Il est ainsi suggéré que la GGT est impliquée dans l'homéostasie des tissus calcifiés

## **2.10 Les niveaux plasmatiques plus élevés de troponine T de haute sensibilité ont une tendance à l'association avec la présence de SVA**

Les biomarqueurs plasmatiques évalués en lien avec les altérations du VG (NT-pro-BNP, créatine kinase, troponine T-HS) n'ont pas montré d'association statistiquement significative ni pour la présence ni pour la progression de la SVA. Toutefois, on a observé une forte tendance à la hausse de la troponine T-HS chez les cas par rapport aux témoins ( $p=0,055$ ).

La troponine T est une protéine cardiaque spécifique qui se lie à la tropomyosine et qui est libérée en cas de dommages des cardiomyocytes. Le développement récent des méthodes de mesures de haute sensibilité pour la troponine T permet qu'on puisse la détecter même en petites quantités (Xu RY *et al.*, 2013). Dans une étude avec 57 patients SVA, les niveaux sériques de troponine T-HS présentaient une corrélation positive et significative avec des paramètres échocardiographiques de structure et fonction myocardiques, ainsi qu'avec des paramètres de caractérisation de la sévérité de la SVA (Rosjo H *et al.*, 2011). De façon similaire, dans une étude plus large impliquant 136 individus avec SVA, Solberg *et al* ont observé une corrélation positive et significative des niveaux sériques de troponine T-HS et des

paramètres échocardiographiques de structure et fonction myocardiques, en incluant des critères de la dysfonction diastolique (Solberg OG *et al.*, 2012). Ils ont également démontré une association significative aux analyses multivariées avec le risque de mort pour toutes causes dans le contexte de la SVA (Solberg OG *et al.*, 2012).

Aucune étude de la littérature n'a jusqu'à présent évalué l'association des niveaux sériques de troponine T-HS avec la présence de la SVA. Notre étude est ainsi la première à décrire une tendance à l'association des niveaux plasmatiques plus élevés de la troponine T-HS avec la présence de SVA. La confirmation de ces résultats par des études sur une plus large population pourrait conduire au concept de la troponine T-HS comme un marqueur intéressant de la SVA et de ses conséquences pour le myocarde.

### **3. Perspectives futures**

#### **3.1 Augmentation de l'échantillon populationnel disponible pour les mesures des biomarqueurs plasmatiques après les résultats de l'étude VALID-ACTION**

Si l'étude VALID-ACTION conclut que les différentes méthodes de prélèvement n'ont pas induit de biais significatifs pour la mesure des biomarqueurs plasmatiques évalués dans notre étude, nous allons pouvoir compléter les analyses d'association des biomarqueurs plasmatiques d'intérêt *versus* la présence et la progression de la SVA en incluant les 172 individus dont les échantillons ont été recueillis par la Biobanque selon l'ancienne méthode. Ces nouvelles analyses seront ainsi plus puissantes que les analyses partielles faites jusqu'à présent et nous permettront de valider et d'approfondir les résultats préliminaires présentés dans ce mémoire (chapitre Résultats Complémentaires).

#### **3.2 Évaluation d'autres variantes génétiques reliées à la présence de SVA dans l'étude principale quant à leur association avec la progression de la SVA**

L'étude principale « Aspects génétique et moléculaire de la sténose valvulaire aortique » est déjà finalisée. Deux autres sous-études basées sur la cohorte de l'étude principale viennent d'être publiées: une qui a évalué des polymorphismes génétiques associés

avec les niveaux sériques d'HDL et des fonctionnalités de l'HDL *versus* le risque de SVA (Arsenault BJ *et al.*, 2014a); et l'autre qui a évalué des polymorphismes génétiques dans le gène LPA associés aux niveaux sériques de Lp(a), ainsi que les niveaux sériques de Lp(a), *versus* le risque de SVA (Arsenault BJ *et al.*, 2014b). La réplication d'autres variantes génétiques rapportées par l'étude principale comme étant reliées à la présence de la SVA est actuellement en cours dans d'autres cohortes génétiques pour bien valider ces résultats.

Suite à la démonstration récente dans la littérature de l'association du variant génétique rs10455872 du gène LPA avec la présence de calcification valvulaire aortique (Thanassoulis G *et al.*, 2013) et le risque de développer une SVA dans la population générale (Kamstrup PR *et al.*, 2014; Arsenault BJ *et al.*, 2014) nous avons donc déjà exploré ce variant génétique dans notre sous-étude. Néanmoins, nous attendons avec optimisme la possible réplication des associations d'autres variantes génétiques avec le risque de SVA afin de pouvoir également évaluer leur association avec la progression de la SVA dans des analyses futures.

### **3.3 Nouveau partenariat avec la Biobanque de l'ICM pour augmenter le nombre total de cas et de témoins**

Un nouveau partenariat avec la Biobanque de l'ICM pourrait être envisagé pour augmenter le nombre de participants avec SVA (cas) et sans SVA (témoins). En effet, une augmentation du nombre de cas permettrait une évaluation plus précise de l'association des biomarqueurs plasmatiques avec la progression de la SVA et permettrait également d'explorer davantage les caractéristiques cliniques et échocardiographiques qui ont été fortement associées à l'évolution de la SVA lors des analyses univariées, contrairement aux analyses multivariées (probablement pour des erreurs de type II dues à une taille insuffisante de l'échantillon). De plus, l'augmentation du nombre de cas apporterait plus de puissance pour l'analyse de l'association de nouveaux biomarqueurs potentiels d'intérêt avec la progression de la SVA, tels que les autres variants génétiques mentionnés ci-dessus ou des paramètres échocardiographiques de la dysfonction diastolique pour lesquels notre groupe a récemment rapporté des résultats intéressants dans des modèles animaux de la SVA (Busseuil D *et al.*, soumis 2013). Cette augmentation du nombre de cas devra être suivie d'une augmentation conséquente de témoins appariés.

## Conclusion

À travers cette étude, nous avons rapporté des prédicteurs cliniques et échocardiographiques indépendants de la progression de la SVA. Pour certains de ces paramètres, tel que la fréquence cardiaque, il s'agit de la première description d'association avec la progression de la SVA. Ce travail apporte ainsi une réelle contribution à la connaissance sur le sujet et ouvre de nouvelles perspectives de recherche pour l'évaluation de la progression de la SVA. Des études supplémentaires (préférentiellement prospectives) devront être menées pour, d'une part, valider ces résultats et, d'autre part, clarifier les mécanismes physiopathologiques sous-jacents à l'association de ces biomarqueurs avec l'évolution de la SVA.

Des associations univariées intéressantes entre des biomarqueurs plasmatiques et la présence et la progression de la SVA ont également été observées pour un sous-groupe de la population. Il sera cependant nécessaire de mesurer les biomarqueurs plasmatiques pour toute la cohorte de l'étude afin de pouvoir réaliser des analyses multivariées et valider les observations démontrées. Pour ce faire, les données de l'étude VALID-ACTION sont indispensables.

D'une manière globale, les résultats de cette étude contribuent à une approche plus personnalisée du suivi et du traitement de la SVA.

# Bibliographie

Abdin ZH (1958). The electrocardiogram in aortic stenosis. *British heart journal* **20**(1): 31-40.

ACC/AHA Task Force on Practice G, Society of Cardiovascular A, Society for Cardiovascular A, Interventions, Society of Thoracic S, Bonow RO, *et al.* (2006). ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (writing committee to revise the 1998 Guidelines for the Management of Patients With Valvular Heart Disease): developed in collaboration with the Society of Cardiovascular Anesthesiologists: endorsed by the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions and the Society of Thoracic Surgeons. *Circulation* **114**(5): e84-231.

Adams DH, Popma JJ, Reardon MJ, *et al* for the U.S. CoreValve Clinical Investigators (2011). Transcatheter aortic-valve replacement with a self-expanding prosthesis. *The New England Journal of Medicine* **370**: 1790-1798.

Ahn HS, Chang SA, Kim HK *et al* (2014). Determinants of pulmonary hypertension development in moderate or severe aortic stenosis. *The Internal Journal of Cardiovascular Imaging* [Epub ahead of print Jul 22].

Akat K, Borggrefe M, Kaden JJ (2009). Aortic valve calcification: basic science to clinical practice. *Heart* **95**(8): 616-623.

Alberti KG, Zimmet P, Shaw J (2006). Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabetic Medicine* **23**(5):469-80.

Alborino D, Hoffmann JL, Fournet PC, Bloch A (2002). Value of exercise testing to evaluate the indication for surgery in asymptomatic patients with valvular aortic stenosis. *The Journal of heart valve disease* **11**(2): 204-209.

Alpco Diagnostics (2013). ADMA Xpress ELISA kit manual.  
**<http://www.alpco.com> (7 avril 2013)**

Amato MC, Moffa PJ, Werner KE, Ramires JA (2001). Treatment decision in asymptomatic aortic valve stenosis: role of exercise testing. *Heart* **86**(4): 381-386.

Ambler G, Omar RZ, Royston P, Kinsman R, Keogh BE, Taylor KM (2005). Generic, simple risk stratification model for heart valve surgery. *Circulation* **112**(2): 224-231.

Anderson RH (2000). Clinical anatomy of the aortic root. *Heart* **84**(6): 670-673.

Aortic valve replacement. University of Southern California, Keck School of Medicine.  
**<http://www.cts.usc.edu/aorticvalvreplacement.html> (12 July 2013)**

Arishiro K, Hoshiga M, Negoro N, Jin D, Takai S, Miyazaki M, *et al.* (2007). Angiotensin receptor-1 blocker inhibits atherosclerotic changes and endothelial disruption of the aortic valve in hypercholesterolemic rabbits. *Journal of the American College of Cardiology* **49**(13): 1482-1489.

Arnetz L, Ekberg NR, Alvarsson M (2014). Sex differences in type 2 diabetes: focus on disease course and outcomes. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy* **7**:409-420.

Aronow WS, Ahn C, Kronzon I, Goldman ME (2001). Association of coronary risk factors and use of statins with progression of mild valvular aortic stenosis in older persons. *The American journal of cardiology* **88**(6): 693-695.

Aronow WS, Kronzon I (1991). Prevalence and severity of valvular aortic stenosis determined by Doppler echocardiography and its association with echocardiographic and electrocardiographic left ventricular hypertrophy and physical signs of aortic stenosis in elderly patients. *The American journal of cardiology* **67**(8): 776-777.

Aronow WS, Schwartz KS, Koenigsberg M (1987). Correlation of serum lipids, calcium, and phosphorus, diabetes mellitus and history of systemic hypertension with presence or absence of calcified or thickened aortic cusps or root in elderly patients. *The American journal of cardiology* **59**(9): 998-999.

Arsenault BJ, Dubé MP, Brodeur MR, De Oliveira Moraes AB *et al* (2014a). Evaluation of links between high-density lipoprotein genetics, functionality, and aortic valve stenosis risk in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **34**:457-462.

Arsenault BJ, Boekholdt SM, Dubé MP, Rhéaume E *et al* (2014b). Lipoprotein(a) Levels, Genotype and Incident Aortic Valve Stenosis: A Prospective Mendelian Randomization Study and Replication in a Case-Control Cohort. *Circ Cardiovasc Genet*. published online April 5, 2014.

Arslan U, Ozdemir M, Kocaman SA, Balcioglu S, Cemri M, Cengel A (2008). Heart rate variability and heart rate turbulence in mild-to-moderate aortic stenosis. *Europace : European pacing, arrhythmias, and cardiac electrophysiology : journal of the working groups on cardiac pacing, arrhythmias, and cardiac cellular electrophysiology of the European Society of Cardiology* **10**(12): 1434-1441.

Attia J, Ioannidis JP, Thakkinstian A, McEvoy M, Scott RJ, Minelli C, *et al.* (2009a). How to use an article about genetic association: A: Background concepts. *JAMA : the journal of the American Medical Association* **301**(1): 74-81.

Attia J, Ioannidis JP, Thakkinstian A, McEvoy M, Scott RJ, Minelli C, *et al.* (2009b). How to use an article about genetic association: B: Are the results of the study valid? *JAMA : the journal of the American Medical Association* **301**(2): 191-197.

Attia J, Ioannidis JP, Thakkinstian A, McEvoy M, Scott RJ, Minelli C, *et al.* (2009c). How to use an article about genetic association: C: What are the results and will they help me in caring for my patients? *JAMA : the journal of the American Medical Association* **301**(3): 304-308.

Authors/Task Force M, Ryden L, Grant PJ, Anker SD, Berne C, Cosentino F, *et al.* (2013). ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the

EASD: the Task Force on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and developed in collaboration with the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *European heart journal* **34**(39): 3035-3087.

Avakian SD, Annicchino-Bizzacchi JM, Grinberg M, Ramires JA, Mansura AP (2001). Apolipoproteins AI, B, and E polymorphisms in severe aortic valve stenosis. *Clinical genetics* **60**(5): 381-384.

Bahler RC, Desser DR, Finkelhor RS, Brener SJ, Youssefi M (1999). Factors leading to progression of valvular aortic stenosis. *The American journal of cardiology* **84**(9): 1044-1048.

Bakaeen FG, Chu D, Ratcliffe M, Gopaldas RR, Blaustein AS, Venkat R, *et al.* (2010). Severe aortic stenosis in a veteran population: treatment considerations and survival. *The Annals of thoracic surgery* **89**(2): 453-458.

Baker KM, Booz GW, Dostal DE (1992). Cardiac actions of angiotensin II: role of an intracardiac renin-angiotensin system. *Annual Review of Physiology* **54**: 227-241.

Balachandran K, Bakay MA, Connolly JM, Zhang X, Yoganathan AP, Levy RJ (2011). Aortic valve cyclic stretch causes increased remodeling activity and enhanced serotonin receptor responsiveness. *The Annals of thoracic surgery* **92**(1): 147-153.

Balachandran K, Hussain S, Yap CH, Padala M, Chester AH, Yoganathan AP (2012). Elevated cyclic stretch and serotonin result in altered aortic valve remodeling via a mechanosensitive 5-HT(2A) receptor-dependent pathway. *Cardiovascular pathology : the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology* **21**(3): 206-213.

Balachandran K, Konduri S, Sucosky P, Jo H, Yoganathan AP (2006). An ex vivo study of the biological properties of porcine aortic valves in response to circumferential cyclic stretch. *Annals of biomedical engineering* **34**(11): 1655-1665.

Balmer C, Beghetti M, Fasnacht M, Friedli B, Arbenz U (2004). Balloon aortic valvoplasty in paediatric patients: progressive aortic regurgitation is common. *Heart* **90**(1): 77-81.

Baumgartner H, Hung J, Bermejo J, Chambers JB, Evangelista A, Griffin BP, *et al.* (2009). Echocardiographic assessment of valve stenosis: EAE/ASE recommendations for clinical practice. *European journal of echocardiography : the journal of the Working Group on Echocardiography of the European Society of Cardiology* **10**(1): 1-25.

Baynes JW, Thorpe SR (2000). Glycooxidation and lipoxidation in atherogenesis. *Free radical biology & medicine* **28**(12): 1708-1716.

Beckmann E, Grau JB, Sainger R, Poggio P, Ferrari G (2010). Insights into the use of biomarkers in calcific aortic valve disease. *The Journal of heart valve disease* **19**(4): 441-452.

Bellamy MF, Pellikka PA, Klarich KW, Tajik AJ, Enriquez-Sarano M (2002). Association of cholesterol levels, hydroxymethylglutaryl coenzyme-A reductase inhibitor treatment, and progression

of aortic stenosis in the community. *Journal of the American College of Cardiology* **40**(10): 1723-1730.

Bennett CJ, Maleszewski JJ, Araoz PA (2012). CT and MR Imaging of the Aortic Valve: Radiologic-Pathologic Correlation. *RadioGraphics* **32**:1399–1420.

Bonner AJ, Jr., Sacks HN, Tavel ME (1973). Assessing the severity of aortic stenosis by phonocardiography and external carotid pulse recordings. *Circulation* **48**(2): 247-252.

Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P. Braunwald's Heart Disease: a Textbook of Cardiovascular Medicine. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012.

Bossé Y, Mathieu P, Pibarot P (2008). Genomics: the next step to elucidate the etiology of calcific aortic valve stenosis. *Journal of the American College of Cardiology* **51**(14): 1327-1336.

Bostrom K, Watson KE, Horn S, Wortham C, Herman IM, Demer LL (1993). Bone morphogenetic protein expression in human atherosclerotic lesions. *The Journal of clinical investigation* **91**(4): 1800-1809.

Bozbas H, Yildirim A, Demir O, Cakmak A, Karacaglar E, Yilmaz M, *et al.* (2008). Serum gamma-glutamyltransferase activity is increased in patients with calcific aortic valve stenosis. *The Journal of heart valve disease* **17**(4): 371-375.

Branchetti E, Sainger R, Poggio P, Grau JB, Patterson-Fortin J, Bavaria JE, *et al.* (2013). Antioxidant enzymes reduce DNA damage and early activation of valvular interstitial cells in aortic valve sclerosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **33**(2): e66-74.

Braunwald E, Roberts WC, Goldblatt A, Aygen MM, Rockoff SD, Gilbert JW (1963). Aortic stenosis: physiological, pathological and clinical concepts. Combined Clinical Staff Conference at the National Institutes of Health. *Ann Intern Med* **58**: 494-522.

Breisch EA, White FC, Bloor CM (1984). Myocardial characteristics of pressure overload hypertrophy. A structural and functional study. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* **51**(3): 333-342.

Brener SJ, Duffy CI, Thomas JD, Stewart WJ (1995). Progression of aortic stenosis in 394 patients: relation to changes in myocardial and mitral valve dysfunction. *Journal of the American College of Cardiology* **25**(2): 305-310.

Briand M, Dumesnil JG, Kadem L, Tongue AG, Rieu R, Garcia D, *et al.* (2005). Reduced systemic arterial compliance impacts significantly on left ventricular afterload and function in aortic stenosis: implications for diagnosis and treatment. *Journal of the American College of Cardiology* **46**(2): 291-298.

Briand M, Lemieux I, Dumesnil JG, Mathieu P, Cartier A, Despres JP, *et al.* (2006). Metabolic syndrome negatively influences disease progression and prognosis in aortic stenosis. *Journal of the American College of Cardiology* **47**(11): 2229-2236.



Brown JM, O'Brien SM, Wu C, Sikora JA, Griffith BP, Gammie JS (2009). Isolated aortic valve replacement in North America comprising 108,687 patients in 10 years: changes in risks, valve types, and outcomes in the Society of Thoracic Surgeons National Database. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* **137**(1): 82-90.

Buellesfeld L, Stortecky S, Kalesan B *et al*, (2013). Aortic Root Dimensions Among Patients With Severe Aortic Stenosis Undergoing Transcatheter Aortic Valve Replacement. *JACC Cardiovascular Interventions* **4**(1): 72-83.

Busseuil D, Merlet N, Avram-Mihalache T, Mecteau M, Shi Y, Brand G, *et al*. (soumis 2013). HDL mimetic peptide CER-522 treatment regresses left ventricular diastolic dysfunction in a rabbit experimental model. *International journal of cardiology*.

Busseuil D, Shi Y, Mecteau M, Brand G, Kernalleguen AE, Thorin E, *et al*. (2008). Regression of aortic valve stenosis by ApoA-I mimetic peptide infusions in rabbits. *British journal of pharmacology* **154**(4): 765-773.

Butcher JT, Penrod AM, Garcia AJ, Nerem RM (2004). Unique morphology and focal adhesion development of valvular endothelial cells in static and fluid flow environments. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **24**(8): 1429-1434.

Byon CH, Javed A, Dai Q, Kappes JC, Clemens TL, Darley-Usmar VM, *et al*. (2008). Oxidative stress induces vascular calcification through modulation of the osteogenic transcription factor Runx2 by AKT signaling. *The Journal of biological chemistry* **283**(22): 15319-15327.

Cagirci G, Cay S, Karakurt O, Buyukterzi Z, Yazihan N, Kilic H, *et al*. (2010). Association between plasma asymmetrical dimethylarginine activity and saphenous vein graft disease in patients with coronary bypass. *Coronary artery disease* **21**(1): 20-25.

Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health (2013). Transcatheter aortic valve replacement. *Envirommental Scan*. Issue **40**: 1-31.

Cappelli S, Epistolato MC, Vianello A, Mazzone A *et al*. Aortic valve disease and gamma-glutamyltransferase: accumulation in tissue and relationships with calcific degeneration. *Atherosclerosis* 2010;**213**(2):385-9.

Capoulade R, Clavel MA, Dumesnil JG, Chan KL, Teo KK, Tam JW, *et al*. (2012a). Impact of metabolic syndrome on progression of aortic stenosis: influence of age and statin therapy. *Journal of the American College of Cardiology* **60**(3): 216-223.

Capoulade R, Clavel MA, Dumesnil JG, Chan KL, Teo KK, Tam JW, *et al*. (2013). Insulin resistance and LVH progression in patients with calcific aortic stenosis: a substudy of the ASTRONOMER trial. *JACC. Cardiovascular imaging* **6**(2): 165-174.

Capoulade R, Côté N, Mathieu P, Clavel MA, Chan KL, Dumesnil JG, *et al*. (2012b). Abstract 17551: Association between Circulating Matrix Gla Protein and Progression of Aortic Stenosis: A Substudy of the ASTRONOMER Trial. *Circulation AHA Congress*.

Carabello BA (2012). Should severe aortic stenosis be operated on before symptom onset? Aortic valve replacement should be operated on before symptom onset. *Circulation* **126**(1): 112-117.

Carabello BA (2013). The symptoms of aortic stenosis: a step closer to understanding their cause. *JACC. Cardiovascular imaging* **6**(2): 147-149.

Carabello BA, Paulus WJ (2009). Aortic stenosis. *Lancet* **373**(9667): 956-966.

Carson-Dewitt R. Aortic valve replacement. Healthfacts. Beliefnet. March 2008.  
**<http://www.beliefnet.com/healthandhealing/getcontent.aspx> (30 June 2013)**

Casaclang-Verzosa G, Malouf JF, Scott CG *et al.* Does left atrial size predict mortality in asymptomatic patients with severe aortic stenosis? *Echocardiography* **27**(2): 105-109.

Caulfield WH, de Leon AC, Jr., Perloff JK, Steelman RB (1971). The clinical significance of the fourth heart sound in aortic stenosis. *The American journal of cardiology* **28**(2): 179-182.

Cernadas MR *et al* (1998). Expression of constitutive and inducible nitric oxide synthases in the vascular wall of young and aging rats. *Circulation Research* **83**: 279-286.

Chan KL, Teo K, Dumesnil JG, Ni A, Tam J, Investigators A (2010). Effect of Lipid lowering with rosuvastatin on progression of aortic stenosis: results of the aortic stenosis progression observation: measuring effects of rosuvastatin (ASTRONOMER) trial. *Circulation* **121**(2): 306-314.

Cheng SL, Shao JS, Charlton-Kachigian N, Loewy AP, Towler DA (2003). MSX2 promotes osteogenesis and suppresses adipogenic differentiation of multipotent mesenchymal progenitors. *The Journal of biological chemistry* **278**(46): 45969-45977.

Cho HJ, Cho HJ, Kim HS (2009). Osteopontin: a multifunctional protein at the crossroads of inflammation, atherosclerosis, and vascular calcification. *Current atherosclerosis reports* **11**(3): 206-213.

Chockalingam A, Venkatesan S, Subramaniam T, Jagannathan V, Elangovan S, Alagesan R, *et al.* (2004). Safety and efficacy of angiotensin-converting enzyme inhibitors in symptomatic severe aortic stenosis: Symptomatic Cardiac Obstruction-Pilot Study of Enalapril in Aortic Stenosis (SCOPE-AS). *American heart journal* **147**(4): E19.

Clementi M, Notari L, Borghi A, Tenconi R (1996). Familial congenital bicuspid aortic valve: a disorder of uncertain inheritance. *American journal of medical genetics* **62**(4): 336-338.

Cohen RM, Franco RS, Khera PK, Smith EP, Lindsell CJ, Ciralo PJ, *et al.* (2008). Red cell life span heterogeneity in hematologically normal people is sufficient to alter HbA1c. *Blood* **112**(10): 4284-4291.

Connolly HM, Oh JK, Schaff HV, Roger VL, Osborn SL, Hodge DO, *et al.* (2000). Severe aortic stenosis with low transvalvular gradient and severe left ventricular dysfunction: result of aortic valve replacement in 52 patients. *Circulation* **101**(16): 1940-1946.

Cordell HJ, Clayton DG (2005). Genetic association studies. *Lancet* **366**(9491): 1121-1131.

- Côté C, Pibarot P, Despres JP, Mohty D, Cartier A, Arsenault BJ, *et al.* (2008). Association between circulating oxidised low-density lipoprotein and fibrocalcific remodelling of the aortic valve in aortic stenosis. *Heart* **94**(9): 1175-1180.
- Côté N, Pibarot P, Pepin A, Fournier D, Audet A, Arsenault B, *et al.* (2010). Oxidized low-density lipoprotein, angiotensin II and increased waist circumference are associated with valve inflammation in prehypertensive patients with aortic stenosis. *International journal of cardiology* **145**(3): 444-449.
- Cowell SJ, Newby DE, Boon NA, Elder AT (2004). Calcific aortic stenosis: same old story? *Age and ageing* **33**(6): 538-544.
- Cowell SJ, Newby DE, Prescott RJ, Bloomfield P, Reid J, Northridge DB, *et al.* (2005). A randomized trial of intensive lipid-lowering therapy in calcific aortic stenosis. *The New England journal of medicine* **352**(23): 2389-2397.
- Cramariuc D, Cioffi G, Rieck AE, Devereux RB, Staal EM, Ray S, *et al.* (2009). Low-flow aortic stenosis in asymptomatic patients: valvular-arterial impedance and systolic function from the SEAS Substudy. *JACC. Cardiovascular imaging* **2**(4): 390-399.
- Crawford MH, Roldan CA (2001). Prevalence of aortic root dilatation and small aortic roots in valvular aortic stenosis. *The American journal of cardiology* **87**(11): 1311-1313.
- Crawford MH *et al.* Current Diagnosis & Treatment: Cardiology. 3rd ed. San Francisco: McGraw-Hill Companies, Inc.; 2009.
- Cripe L, Andelfinger G, Martin LJ, Shooner K, Benson DW (2004). Bicuspid aortic valve is heritable. *Journal of the American College of Cardiology* **44**(1): 138-143.
- Cronin C (1992). Calcific aortic stenosis and autonomic dysfunction. *Medical hypotheses* **38**(3): 252-256.
- Cuhadar S *et al* (2012). Stability studies of common biochemical analytes in serum separator tubes with or without gel barrier subjected to various storage conditions. *Biochemia Medica* **22**(2):202-214.
- Currie PJ, Seward JB, Hagler DJ, Tajik AJ (1986). Two-dimensional/Doppler echocardiography and its relationship to cardiac catheterization for diagnosis and management of congenital heart disease. *Cardiovascular clinics* **17**(1): 301-322.
- Currie PJ, Seward JB, Reeder GS, Vlietstra RE, Bresnahan DR, Bresnahan JF, *et al.* (1985). Continuous-wave Doppler echocardiographic assessment of severity of calcific aortic stenosis: a simultaneous Doppler-catheter correlative study in 100 adult patients. *Circulation* **71**(6): 1162-1169.
- Das P, Rimington H, Chambers J (2005). Exercise testing to stratify risk in aortic stenosis. *European heart journal* **26**(13): 1309-1313.
- de Denus S, *et al.* (2010). MHI Hospital Cohort; Procedure: Blood collection and processing; last version november 10th.

DeGoma EM, deGoma LR, Rader DJ. Beyond high-density lipoprotein cholesterol levels evaluating high-density lipoprotein function as influenced by novel therapeutic approaches. *J Am Coll Cardiol* 2008; **51**: 2199-2211.

Deutscher S, Rockette HE, Krishnaswami V (1984). Diabetes and hypercholesterolemia among patients with calcific aortic stenosis. *Journal of chronic diseases* **37**(5): 407-415.

Dewey TM, Brown DL, Schuler G *et al* (2011). The effect of concomitant coronary artery disease on procedural and late outcomes of transcatheter aortic valve implantation. *The Annals of Thoracic Surgery* **89**: 758-767.

Douglas PS, Berko B, Lesh M, Reichek N (1989). Alterations in diastolic function in response to progressive left ventricular hypertrophy. *Journal of the American College of Cardiology* **13**(2): 461-467.

Eddleman EE, Jr., Frommeyer WB, Jr., Lyle DP, Turner ME, Jr., Bancroft WH, Jr. (1973). Critical analysis of clinical factors in estimating severity of aortic valve disease. *The American journal of cardiology* **31**(6): 687-695.

Eghbali-Fatourehchi GZ, Lamsam J, Fraser D, Nagel D, Riggs BL, Khosla S (2005). Circulating osteoblast-lineage cells in humans. *The New England journal of medicine* **352**(19): 1959-1966.

Ellis SG, Dushman-Ellis S, Luke MM, Murugesan G, Kottke-Marchant K, Ellis GM, *et al.* (2012). Pilot candidate gene analysis of patients  $\geq 60$  years old with aortic stenosis involving a tricuspid aortic valve. *The American journal of cardiology* **110**(1): 88-92.

Epstein O, Perkin GD, De Bono DP, Cookson J. Clinical examination. 2nd edition. London: Mosby; 1997.

Feigenbaum H, Armstrong WF, Ryan T. Feigenbaum's echocardiography. 6th ed. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins; 2004.

Eyendja C (2011). Bases génétiques de la sténose valvulaire aortique calcifiée (SVAC). *Mémoire de maîtrise, Université de Montréal*.

Faggiano P, Ghizzoni G, Sorgato A, Sabatini T, Simoncelli U, Gardini A, *et al.* (1992). Rate of progression of valvular aortic stenosis in adults. *The American journal of cardiology* **70**(2): 229-233.

Faggiano P, Rusconi C, Sabatini T, Ghizzoni G, Sorgato A, Gardini A (1995). Congestive heart failure in patients with valvular aortic stenosis. A clinical and echocardiographic Doppler study. *Cardiology* **86**(2): 120-129.

Feigenbaum H, Armstrong WF, Ryan T. Feigenbaum's echocardiography. 6th ed. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins; 2004.

Feldman BJ, Khandheria BK, Warnes CA, Seward JB, Taylor CL, Tajik AJ (1990). Incidence, description and functional assessment of isolated quadricuspid aortic valves. *The American journal of cardiology* **65**(13): 937-938.

Ferrari S, Rizzoli R, Chevalley T, Slosman D, Eisman JA, Bonjour JP (1995). Vitamin-D-receptor-gene polymorphisms and change in lumbar-spine bone mineral density. *Lancet* **345**(8947):423-424.

Ferrari S, Manen D, Bonjour JP, Slosman D, Rizzoli R (1999). Bone mineral mass and calcium and phosphate metabolism in young men: relationships with vitamin D receptorallelic polymorphisms. *The journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **84**(6): 2043-2048.

Fleg JL, Strait J. Age-associated changes in cardiovascular structure and function: a fertile milieu for future disease (2012). *Heart Failure Reviews* **17**: 545-554.

Florentin M, Liberopoulos EN, Wierzbicki AS, Mikhailidis DP (2008).. Multiple actions of high-density lipoprotein. *Current Opinion in Cardiology* **23**: 370-378.

Fowler RS (1965). Ventricular repolarization in congenital aortic stenosis. *American heart journal* **70**(5): 603-611.

Fraser WD (2009). Hyperparathyroidism. *Lancet* **374** (9684): 145-158.

Freeman RV, Crittenden G, Otto C (2004). Acquired aortic stenosis. *Expert review of cardiovascular therapy* **2**(1): 107-116.

Freeman RV, Otto CM (2005). Spectrum of calcific aortic valve disease: pathogenesis, disease progression, and treatment strategies. *Circulation* **111**(24): 3316-3326.

Friedman HS, Zaman Q, Haft JI *et al.* (1978). Assessment of atrioventricular conduction in aortic valve disease. *British Heart Journal* **40**:911-917.

Galante A, Pietroiusti A, Vellini M, Piccolo P, Possati G, De Bonis M, *et al.* (2001). C-reactive protein is increased in patients with degenerative aortic valvular stenosis. *Journal of the American College of Cardiology* **38**(4): 1078-1082.

Gallino RA, Milner MR, Goldstein SA, Pichard AD, Majchrzak C, Lindsay J, Jr. (1989). Left ventricular filling patterns in aortic stenosis in patients older than 65 years of age. *The American journal of cardiology* **63**(15): 1103-1106.

Garg V (2006). Molecular genetics of aortic valve disease. *Current opinion in cardiology* **21**(3): 180-184.

Garg V, Muth AN, Ransom JF, Schluterman MK, Barnes R, King IN, *et al.* (2005). Mutations in NOTCH1 cause aortic valve disease. *Nature* **437**(7056): 270-274.

Gaudreault N, Ducharme V, Lamontagne M, Guauque-Olarte S, Mathieu P, Pibarot P, *et al.* (2011). Replication of genetic association studies in aortic stenosis in adults. *The American journal of cardiology* **108**(9): 1305-1310.

Gavras I, Gavras H (2000). The antiarrhythmic potential of angiotensin II antagonism: experience with losartan. *American Journal of Hypertension*; **13**:512-527.

Geer EB, Shen W. Gender differences in insulin resistance, body composition, and energy balance. *Gender Medicine* 2009; **6**; Suppl 1; 60-75.

Gerber IL, Legget ME, West TM, Richards AM, Stewart RA (2005). Usefulness of serial measurement of N-terminal pro-brain natriuretic peptide plasma levels in asymptomatic patients with aortic stenosis to predict symptomatic deterioration. *Am J Cardiol* **95**: 898–901.

Glader CA, Birgander LS, Soderberg S, Ildgruben HP, Saikku P, Waldenstrom A, *et al.* (2003). Lipoprotein(a), Chlamydia pneumoniae, leptin and tissue plasminogen activator as risk markers for valvular aortic stenosis. *European heart journal* **24**(2): 198-208.

Goldbarg SH, Elmariah S, Miller MA, Fuster V (2007). Insights into degenerative aortic valve disease. *Journal of the American College of Cardiology* **50**(13): 1205-1213.

Grau JB, Poggio P, Sainger R, Vernick WJ, Seefried WF, Branchetti E, *et al.* (2012). Analysis of osteopontin levels for the identification of asymptomatic patients with calcific aortic valve disease. *The Annals of thoracic surgery* **93**(1): 79-86.

Grossman W, Jones D, McLaurin LP (1975). Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *The Journal of clinical investigation* **56**(1): 56-64.

Hachicha Z, Dumesnil JG, Bogaty P, Pibarot P (2007). Paradoxical low-flow, low-gradient severe aortic stenosis despite preserved ejection fraction is associated with higher afterload and reduced survival. *Circulation* **115**(22): 2856-2864.

Halsall A, Ravetto P, Reyes Y *et al* (2008). The quality of DNA extracted from liquid or dried blood is not adversely affected by storage at 4°C for up to 24h. *International Journal of Epidemiology* **37**: i7-i10.

Hamdan A, Guetta V, Konen E, Goitein O, Segev A, Raanani E, *et al.* (2012). Deformation dynamics and mechanical properties of the aortic annulus by 4-dimensional computed tomography: insights into the functional anatomy of the aortic valve complex and implications for transcatheter aortic valve therapy. *Journal of the American College of Cardiology* **59**(2): 119-127.

Hardy J, Trabzuni D, Ryten M (2009). Whole genome expression as a quantitative trait. *Biochemical Society transactions* **37**(Pt 6): 1276-1277.

Hatle L, Angelsen BA, Tromsdal A (1980). Non-invasive assessment of aortic stenosis by Doppler ultrasound. *British heart journal* **43**(3): 284-292.

Heart valve repair or replacement surgery. Health library. Johns Hopkins Medicine.

[http://www.hopkinsmedicine.org/healthlibrary/test\\_procedures/cardiovascular/heart\\_valve\\_repair\\_or\\_replacement\\_surgery\\_92,P07975/](http://www.hopkinsmedicine.org/healthlibrary/test_procedures/cardiovascular/heart_valve_repair_or_replacement_surgery_92,P07975/) (30 june 2013)

Heart valve surgery.com. Patient & caregiver resources. 17 june 2012.

<http://www.heart-valve-surgery.com/heart-surgery-blog/2012/06/17/ross-procedure-bicuspid-aortic-valve> (15 june 2013)

Hegrenaes L, Hatle L (1985). Aortic stenosis in adults. Non-invasive estimation of pressure differences by continuous wave Doppler echocardiography. *British heart journal* **54**(4): 396-404.

Hein S, Arnon E, Kostin S, Schonburg M, Elsasser A, Polyakova V, *et al.* (2003). Progression from compensated hypertrophy to failure in the pressure-overloaded human heart: structural deterioration and compensatory mechanisms. *Circulation* **107**(7): 984-991.

Heistad DD, Shanahan C, Demer LL (2013). Introduction to the Compendium on calcific aortic valve disease. *Circulation research* **113**(2): 176-178.

Helske S, Kupari M, Lindstedt KA, Kovanen PT (2007). Aortic valve stenosis: an active atheroinflammatory process. *Current opinion in lipidology* **18**(5): 483-491.

Helske S, Lindstedt KA, Laine M, Mayranpaa M, Werkkala K, Lommi J, *et al.* (2004). Induction of local angiotensin II-producing systems in stenotic aortic valves. *Journal of the American College of Cardiology* **44**(9): 1859-1866.

Hess OM, Ritter M, Schneider J, Grimm J, Turina M, Krayenbuehl HP (1984). Diastolic stiffness and myocardial structure in aortic valve disease before and after valve replacement. *Circulation* **69**(5): 855-865.

Hirschfield GM, Pepys MB (2003). C-reactive protein and cardiovascular disease: new insights from an old molecule. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians* **96**(11): 793-807.

Hoaglin M. Aortic valve. National Instituts of Health. 27 september 2009.

<https://science.nichd.nih.gov/confluence/display/~michael.hoaglin/Aortic+Valve> (15 June 2013)

Holme I, Pedersen TR, Boman K, Egstrup K, Gerdtts E, Kesaniemi YA, *et al.* (2012). A risk score for predicting mortality in patients with asymptomatic mild to moderate aortic stenosis. *Heart* **98**(5): 377-383.

Holmes DR, Jr., Mack MJ, Kaul S, Agnihotri A, Alexander KP, Bailey SR, *et al.* (2012). 2012 ACCF/AATS/SCAI/STS expert consensus document on transcatheter aortic valve replacement. *Journal of the American College of Cardiology* **59**(13): 1200-1254.

Holt NF, Sivarajan M, Mandapati D, Printsev Y, Elefteriades JA (2007). Quadricuspid aortic valve with aortic insufficiency: case report and review of the literature. *Journal of cardiac surgery* **22**(3): 235-237.

Honda S, Kitai T, Okada Y, Tani T, Kim K, Kaji S, *et al.* (2012). Impact of aortic regurgitation on the prognosis of severe aortic stenosis. *Heart* **98**(21): 1591-1594.

Horne BD, Camp NJ, Muhlestein JB, Cannon-Albright LA (2004). Evidence for a heritable component in death resulting from aortic and mitral valve diseases. *Circulation* **110**(19): 3143-3148.

Hugenholtz PG, Lees MM, Nadas AS (1962). The scalar electrocardiogram, vectorcardiogram, and exercise electrocardiogram in the assessment of congenital aortic stenosis. *Circulation* **26**: 79-91.

HumanOmniExpress BeadChip data sheet. Illumina. 2013.

[http://www.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet\\_human\\_omni\\_express.pdf](http://www.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet_human_omni_express.pdf)  
(15 octobre 2013)

Huntington K, Hunter AG, Chan KL (1997). A prospective study to assess the frequency of familial clustering of congenital bicuspid aortic valve. *Journal of the American College of Cardiology* **30**(7): 1809-1812.

Imai K, Okura H, Kume T, Yamada R, Miyamoto Y, Kawamoto T, *et al.* (2008). C-Reactive protein predicts severity, progression, and prognosis of asymptomatic aortic valve stenosis. *American heart journal* **156**(4): 713-718.

Ioanidis JPA (2005). Why Most Published Research Findings Are False. *PLoS Med.* **2**(8): e124.

Ishihara K, Zile MR, Nagatsu M, Nakano K, Tomita M, Kanazawa S, *et al.* (1992). Coronary blood flow after the regression of pressure-overload left ventricular hypertrophy. *Circulation research* **71**(6): 1472-1481.

Iskandar A, Thompson PD (2013). A meta-analysis of aortic root size in elite athletes. *Circulation* **127**(7): 791-798.

Iung B, Baron G, Butchart EG, Delahaye F, Gohlke-Barwolf C, Levang OW, *et al.* (2003). A prospective survey of patients with valvular heart disease in Europe: The Euro Heart Survey on Valvular Heart Disease. *European heart journal* **24**(13): 1231-1243.

Ix JH, Chertow GM, Shlipak MG, Brandenburg VM, Ketteler M, Whooley MA (2007). Association of fetuin-A with mitral annular calcification and aortic stenosis among persons with coronary heart disease: data from the Heart and Soul Study. *Circulation* **115**(19): 2533-2539.

Jaffe WM, Roche AH, Coverdale HA, McAlister HF, Ormiston JA, Greene ER (1988). Clinical evaluation versus Doppler echocardiography in the quantitative assessment of valvular heart disease. *Circulation* **78**(2): 267-275.

Jornayvaz FR, Shulman GI (2010). Regulation of mitochondrial biogenesis. *Essays in biochemistry* **47**: 69-84.

Jung J, Heisel A, Tscholl D, Butz B, Fries R, Schafers HJ, *et al.* (1997). Factors influencing heart rate variability in patients with severe aortic valve disease. *Clinical cardiology* **20**(4): 341-344.

Kamalesh M, Ng C, El Masry H, Eckert G, Sawada S (2009). Does diabetes accelerate progression of calcific aortic stenosis? *European journal of echocardiography : the journal of the Working Group on Echocardiography of the European Society of Cardiology* **10**(6): 723-725.



Kamstrup PR, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG (2014). Elevated Lipoprotein(a) and Risk of Aortic Valve Stenosis in the General Population. *Journal of the American College of Cardiology* **63**(5):470-4777. Epub 2013 Oct 2.

Kapila R, Mahajan RP. Diastolic dysfunction. *Continuing Education in Anesthesia, Critical Care & Pain* **9**(1): 29-33.

Katz R, Budoff MJ, Takasu J, Shavelle DM, Bertoni A, Blumenthal RS, *et al.* (2009). Relationship of metabolic syndrome with incident aortic valve calcium and aortic valve calcium progression: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Diabetes* **58**(4): 813-819.

Katz R, Wong ND, Kronmal R, Takasu J, Shavelle DM, Probstfield JL, *et al.* (2006). Features of the metabolic syndrome and diabetes mellitus as predictors of aortic valve calcification in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Circulation* **113**(17): 2113-2119.

Khosla S, Eghbali-Fatourehchi GZ (2006). Circulating cells with osteogenic potential. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1068**: 489-497.

Kiel DP, Myers RH, Cupples LA, Kong XF, *et al.* (1997). The BsmI vitamin D receptor restriction fragment length polymorphism (bb) influences the effect of calcium intake on bone mineral density. *Journal of Bone and Mineral Research* **12**(7):1049-1057.

Kim H, Bergman R, Matyal R, Khabbaz KR, Mahmood F (2013). Three-dimensional echocardiography and en face views of the aortic valve: technical communication. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia* **27**(2): 376-380.

Kobayashi M, Furukawa Y, Chiba S (1978). Positive chronotropic and inotropic effects of angiotensin II in the dog heart. *European Journal of Pharmacology*; **50**(1):17-25.

Koos R, Bradenburg V, Horst Mahnken A *et al.* Association of fetuin-A levels with the progression of aortic valve calcification in non-dialyzed patients. *Eur Heart J* 2009; **30**:2054-2061.

Kreuzer J, Lloyd MB, Bok D, Fless GM, Scanu AM, Lusis AJ, *et al.* (1994). Lipoprotein (a) displays increased accumulation compared with low-density lipoprotein in the murine arterial wall. *Chemistry and physics of lipids* **67-68**: 175-190.

Kupari M, Lindroos M, Iivanainen AM, Heikkilä J, Tilvis R (1997). Congestive heart failure in old age: prevalence, mechanisms and 4-year prognosis in the Helsinki Ageing Study. *Journal of internal medicine* **241**(5): 387-394.

Kupari M, Turto H, Lommi J (2005). Left ventricular hypertrophy in aortic valve stenosis: preventive or promotive of systolic dysfunction and heart failure? *European heart journal* **26**(17): 1790-1796.

Kvidal P, Bergstrom R, Malm T, Stahle E (2000). Long-term follow-up of morbidity and mortality after aortic valve replacement with a mechanical valve prosthesis. *European heart journal* **21**(13): 1099-1111.

Kyndt F, Le Scouarnec S, Jaafar P, Gueffet JP, Legendre A, Trochu JN, *et al.* (2007). [Genetic aspects of valvulopathies]. *Archives des maladies du coeur et des vaisseaux* **100**(12): 1013-1020.

Labovitz AJ, Ferrara RP, Kern MJ, Bryg RJ, Mrosek DG, Williams GA (1986). Quantitative evaluation of aortic insufficiency by continuous wave Doppler echocardiography. *Journal of the American College of Cardiology* **8**(6): 1341-1347.

Lai CF, Shao JS, Behrmann A, Krchma K, Cheng SL, Towler DA (2012). TNFR1-activated reactive oxidative species signals up-regulate osteogenic Msx2 programs in aortic myofibroblasts. *Endocrinology* **153**(8): 3897-3910.

Lakatta E, Levy D (2003). Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises; part I: aging arteries: a "set up" for vascular disease. *Circulation* **107**: 139-146.

Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, *et al.* (2005). Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography* **18**(12): 1440-1463.

Larsen LH, Kofoed KF, Carstensen HG *et al* (2014). Aortic valve area compared with 320-detector computed tomography: comparison with transthoracic echocardiography. *The International Journal of Cardiovascular Imaging* **30**: 165-173.

Larsen ML, Horder M, Mogensen EF (1990). Effect of long-term monitoring of glycosylated hemoglobin levels in insulin-dependent diabetes mellitus. *The New England journal of medicine* **323**(15): 1021-1025.

Le Gal G, Bertault V, Bezon E, Cornily JC, Barra JA, Blanc JJ (2005). Heterogeneous geographic distribution of patients with aortic valve stenosis: arguments for new aetiological hypothesis. *Heart* **91**(2): 247-249.

le Polain de Waroux JB, Pouleur AC, Goffinet C, Vancraeynest D, Van Dyck M, Robert A, *et al.* (2007). Functional anatomy of aortic regurgitation: accuracy, prediction of surgical reparability, and outcome implications of transesophageal echocardiography. *Circulation* **116**(11 Suppl): I264-269.

Lee R, Li S, Rankin JS, O'Brien SM, Gammie JS, Peterson ED, *et al.* (2011). Fifteen-year outcome trends for valve surgery in North America. *The Annals of thoracic surgery* **91**(3): 677-684; discussion p 684.

Leipsic J, Gurvitch R, LaBounty T, *et al* (2011). Multidetector computed tomography in transcatheter aortic valve implantation. *Journal of the American College of Cardiology: Cardiovascular Imaging* **4**: 416-429.

Lenters-Westra E, Schindhelm RK, Bilo HJ, Slingerland RJ (2013). Haemoglobin A1c: Historical overview and current concepts. *Diabetes research and clinical practice* **99**(2): 75-84.

Leon MB, Smith CR, Mack M, *et al*, PARTNER Trial Investigators (2010). Transcatheter aortic-valve implantation for aortic stenosis in patients who cannot undergo surgery. *The New England Journal of Medicine* **363**(17): 1597-1607.

Leopold JA (2012). Cellular Mechanisms of Aortic Valve Calcification. *Circulation Cardiovascular Interventions* **5**:605-614.

Lev M (1964). Anatomic bases for atrioventricular block. *American Journal of Medicine* **37**:742-748.

Levey AS, Greene T, Sarnak MJ, Wang X, Beck GJ, Kusek JW, *et al*. (2006). Effect of dietary protein restriction on the progression of kidney disease: long-term follow-up of the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* **48**(6): 879-888.

Lindman BR, Bonow RO, Otto CM (2013). Current management of calcific aortic stenosis. *Circulation research* **113**(2): 223-237.

Lindroos M, Kupari M, Valvanne J, Strandberg T, Heikkila J, Tilvis R (1994). Factors associated with calcific aortic valve degeneration in the elderly. *European heart journal* **15**(7): 865-870.

Litwin SE, Katz SE, Weinberg EO, Lorell BH, Aurigemma GP, Douglas PS (1995). Serial echocardiographic-Doppler assessment of left ventricular geometry and function in rats with pressure-overload hypertrophy. Chronic angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates the transition to heart failure. *Circulation* **91**(10): 2642-2654.

Lombard JT, Selzer A (1987). Valvular aortic stenosis. A clinical and hemodynamic profile of patients. *Annals of internal medicine* **106**(2): 292-298.

Lommi JJ, Kovanen PT, Jauhiainen M, Lee-Rueckert M, Kupari M, Helske S (2011). High-density lipoproteins (HDL) are present in stenotic aortic valves and may interfere with the mechanisms of valvular calcification. *Atherosclerosis* **219**(2): 538-544.

Lu TM, Chung MY, Lin CC, Hsu CP, Lin SJ (2011). Asymmetric dimethylarginine and clinical outcomes in chronic kidney disease. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* **6**(7): 1566-1572.

Mackie BD, Subhi Ali Y. Aortic valve anatomy. Medscape Reference [serial online]. 10 May 2013. <http://emedicine.medscape.com/article/1922899-overview> (29 May 2013)

MacMillan RM, Demorizi NM, Gessman LJ, Maranhao V (1985). Correlates of prolonged HV conduction in aortic stenosis. *American Heart Journal* **110**:56-60.

Malouf JF, Edwards WD, Tajik AJ, Seward J. Functional anatomy of the heart. In: Fuster V, O'Rourke RA, Walsh RA, Poole-Wilson P, eds. *Hurst's The Heart*. 12th ed. New York, NY: McGraw-Hill Companies, Inc; 2008.

- Marcus ML, Doty DB, Hiratzka LF, Wright CB, Eastham CL (1982). Decreased coronary reserve: a mechanism for angina pectoris in patients with aortic stenosis and normal coronary arteries. *The New England journal of medicine* **307**(22): 1362-1366.
- Masson JB, Kovac J, Schuler G *et al* (2009). Transcatheter aortic valve implantation: review of the nature, management and avoidance of procedural complications. *Journal of the American College of Cardiology: Cardiovascular Interventions* **2**: 811-820.
- Masson JB, Lee M, Boone RH *et al* (2010). Impact of coronary artery disease on outcomes after transcatheter aortic valve implantation. *Catheterisation and cardiovascular interventions* **76**: 165-173.
- McKellar SH, Tester DJ, Yagubyan M, Majumdar R, Ackerman MJ, Sundt TM, 3rd (2007). Novel NOTCH1 mutations in patients with bicuspid aortic valve disease and thoracic aortic aneurysms. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* **134**(2): 290-296.
- Mehta PK, Griendling KK (2007). Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *American journal of physiology. Cell physiology* **292**(1): C82-97.
- Merryman WD, Lukoff HD, Long RA, Engelmayr GC, Jr., Hopkins RA, Sacks MS (2007). Synergistic effects of cyclic tension and transforming growth factor-beta1 on the aortic valve myofibroblast. *Cardiovascular pathology : the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology* **16**(5): 268-276.
- Messika-Zeitoun D, Bielak LF, Peyser PA, et al (2007). Aortic valve calcification: determinants and progression in the population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **27**:642–8.
- Miller JD, Chu Y, Brooks RM, Richenbacher WE, Pena-Silva R, Heistad DD (2008). Dysregulation of antioxidant mechanisms contributes to increased oxidative stress in calcific aortic valvular stenosis in humans. *Journal of the American College of Cardiology* **52**(10): 843-850.
- Mills WR, Einstadter D, Finkelhor RS. Relation of calcium-phosphorus product to the severity of aortic stenosis in patients with normal renal function. *Am J Cardiol* 2004;94:1196–8.
- Misfeld M, Sievers HH (2007). Heart valve macro- and microstructure. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* **362**(1484): 1421-1436.
- Mohler ER, 3rd, Chawla MK, Chang AW, Vyavahare N, Levy RJ, Graham L, *et al.* (1999). Identification and characterization of calcifying valve cells from human and canine aortic valves. *The Journal of heart valve disease* **8**(3): 254-260.
- Mohler ER, 3rd, Gannon F, Reynolds C, Zimmerman R, Keane MG, Kaplan FS (2001). Bone formation and inflammation in cardiac valves. *Circulation* **103**(11): 1522-1528.
- Mohler ER, 3rd, Kaplan FS, Pignolo RJ (2012). Boning-up on aortic valve calcification. *Journal of the American College of Cardiology* **60**(19): 1954-1955.
- Moraes C, Likhitpanichkul M, Lam CJ, Beca BM, Sun Y, Simmons CA (2013). Microdevice array-based identification of distinct mechanobiological response profiles in layer-specific valve interstitial cells. *Integrative biology : quantitative biosciences from nano to macro* **5**(4): 673-680.

- Moura LM, Faria S, Brito M, Pinto FJ, Kristensen SD, Barros IM, *et al.* (2012). Relationship of PON1 192 and 55 gene polymorphisms to calcific valvular aortic stenosis. *American journal of cardiovascular disease* **2**(2): 123-132.
- Moura LM, Ramos SF, Zamorano JL, Barros IM, Azevedo LF, Rocha-Goncalves F, *et al.* (2007). Rosuvastatin affecting aortic valve endothelium to slow the progression of aortic stenosis. *Journal of the American College of Cardiology* **49**(5): 554-561.
- Munt B, Legget ME, Kraft CD, Miyake-Hull CY, Fujioka M, Otto CM (1999). Physical examination in valvular aortic stenosis: correlation with stenosis severity and prediction of clinical outcome. *American heart journal* **137**(2): 298-306.
- Mutlak D, Aronson D, Carasso S *et al* (2012). Frequency, determinants and outcome of pulmonary hypertension in patients with aortic valve stenosis. *The American Journal of Medical Sciences* **343**(5):397-401.
- Nadir MA, Wei L, Elder DH *et al.* Impact of renin-angiotensin system blockade therapy on outcome in aortic stenosis. *Journal of the American College of Cardiology* 2011;**58**:570-576.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture. Approved Standard, H3-A5, Wayne, PA; 2003.*
- Nashef SA, Roques F, Michel P, Gauducheau E, Lemeshow S, Salamon R (1999). European system for cardiac operative risk evaluation (EuroSCORE). *European Journal of Cardiothoracic Surgery*; **16**(1):9-13.
- Nassimiha D, Aronow WS, Ahn C, Goldman ME (2001). Association of coronary risk factors with progression of valvular aortic stenosis in older persons. *American Journal of Cardiology* **87**:1313–4.
- Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, Carabello BA *et al.* 2014 ACC/AHA Guideline for the management of patients with valvular heart disease: executive summary. *Circulation* **129**:2440-2492.
- Ngo DT, Heresztyn T, Mishra K, Marwick TH, Horowitz JD (2007). Aortic stenosis is associated with elevated plasma levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA). *Nitric oxide : biology and chemistry / official journal of the Nitric Oxide Society* **16**(2): 197-201.
- Ngo DT, Wuttke RD, Turner S, Marwick TH, Horowitz JD (2004). Quantitative assessment of aortic sclerosis using ultrasonic backscatter. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography* **17**(11): 1123-1130.
- Nielsen LB, Stender S, Jauhiainen M, Nordestgaard BG (1996). Preferential influx and decreased fractional loss of lipoprotein(a) in atherosclerotic compared with nonlesioned rabbit aorta. *The Journal of clinical investigation* **98**(2): 563-571.
- Nightingale AK, Horowitz JD (2005). Aortic sclerosis: not an innocent murmur but a marker of increased cardiovascular risk. *Heart* **91**(11): 1389-1393.

- Nistri S, Grande-Allen J, Noale M, Basso C, Siviero P, Maggi S, *et al.* (2008). Aortic elasticity and size in bicuspid aortic valve syndrome. *European heart journal* **29**(4): 472-479.
- Nkomo VT, Gardin JM, Skelton TN, Gottdiener JS, Scott CG, Enriquez-Sarano M (2006). Burden of valvular heart diseases: a population-based study. *Lancet* **368**(9540): 1005-1011.
- Nordström P, Glader CA, Dahlen G, Birgander LS, Lorentzon R, Waldenstrom A, *et al.* (2003). Oestrogen receptor alpha gene polymorphism is related to aortic valve sclerosis in postmenopausal women. *Journal of internal medicine* **254**(2): 140-146.
- Northrup WF, 3rd, Dubois KA, Kshetry VR, Teskey JM, Nicoloff DM (2002). Trends in aortic valve surgery in a large multi-surgeon, multi-hospital practice, 1979-1999. *The Journal of heart valve disease* **11**(6): 768-778; discussion 778-769.
- Novaro GM, Katz R, Aviles RJ, Gottdiener JS, Cushman M, Psaty BM, *et al.* (2007). Clinical factors, but not C-reactive protein, predict progression of calcific aortic-valve disease: the Cardiovascular Health Study. *Journal of the American College of Cardiology* **50**(20): 1992-1998.
- Novaro GM, Mishra M, Griffin BP (2003a). Incidence and echocardiographic features of congenital unicuspid aortic valve in an adult population. *The Journal of heart valve disease* **12**(6): 674-678.
- Novaro GM, Sachar R, Pearce GL, Sprecher DL, Griffin BP (2003b). Association between apolipoprotein E alleles and calcific valvular heart disease. *Circulation* **108**(15): 1804-1808.
- Novaro GM, Tiong IY, Pearce GL, Lauer MS, Sprecher DL, Griffin BP (2001). Effect of hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors on the progression of calcific aortic stenosis. *Circulation* **104**(18): 2205-2209.
- Novaro GM, Aronow HD, Mayer-Sabik E, *et al* (2004). Plasma homocysteine and calcific aortic valve disease. *Heart* **90**:802-3.
- O'Brien KD, Probstfield JL, Caulfield MT, Nasir K, Takasu J, Shavelle DM, *et al.* (2005). Angiotensin-converting enzyme inhibitors and change in aortic valve calcium. *Archives of internal medicine* **165**(8): 858-862.
- O'Brien KD, Reichenbach DD, Marcovina SM, Kuusisto J, Alpers CE, Otto CM (1996). Apolipoproteins B, (a), and E accumulate in the morphologically early lesion of 'degenerative' valvular aortic stenosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **16**(4): 523-532.
- O'Brien KD, Shavelle DM, Caulfield MT, McDonald TO, Olin-Lewis K, Otto CM, *et al.* (2002). Association of angiotensin-converting enzyme with low-density lipoprotein in aortic valvular lesions and in human plasma. *Circulation* **106**(17): 2224-2230.
- Olivetti G, Abbi R, Quaini F, Kajstura J, Cheng W, Nitahara JA, *et al.* (1997). Apoptosis in the failing human heart. *The New England journal of medicine* **336**(16): 1131-1141.
- Olsson M, Thyberg J, Nilsson J (1999). Presence of oxidized low density lipoprotein in nonrheumatic stenotic aortic valves. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **19**(5): 1218-1222.

- Ortlepp JR, Hoffmann R, Ohme F, Lauscher J, Bleckmann F, Hanrath P (2001). The vitamin D receptor genotype predisposes to the development of calcific aortic valve stenosis. *Heart* **85**(6): 635-638.
- Ortlepp JR, Schmitz F, Mevissen V, Weiss S, Huster J, Dronskowski R, *et al.* (2004). The amount of calcium-deficient hexagonal hydroxyapatite in aortic valves is influenced by gender and associated with genetic polymorphisms in patients with severe calcific aortic stenosis. *European heart journal* **25**(6): 514-522.
- Otto CM (2008). Calcific aortic stenosis--time to look more closely at the valve. *The New England journal of medicine* **359**(13): 1395-1398.
- Otto CM (2012). The Practice of Clinical Echocardiography, 4th Edition. *Elsevier Saunders*.
- Otto CM (2013). Textbook of Clinical Echocardiography, 5th Edition. *Elsevier Saunders*.
- Otto CM, Bonow RO (2010). Valvular Heart Disease: A Companion to Braunwald's Heart Disease, 3rd edition. *Elseviers Saunders*.
- Otto CM, Burwash IG, Legget ME, Munt BI, Fujioka M, Healy NL, *et al.* (1997). Prospective study of asymptomatic valvular aortic stenosis. Clinical, echocardiographic, and exercise predictors of outcome. *Circulation* **95**(9): 2262-2270.
- Otto CM, Kuusisto J, Reichenbach DD, Gown AM, O'Brien KD (1994). Characterization of the early lesion of 'degenerative' valvular aortic stenosis. Histological and immunohistochemical studies. *Circulation* **90**(2): 844-853.
- Otto CM, Lind BK, Kitzman DW, Gersh BJ, Siscovick DS (1999). Association of aortic-valve sclerosis with cardiovascular mortality and morbidity in the elderly. *The New England journal of medicine* **341**(3): 142-147.
- Otto CM, Pearlman AS, Gardner CL (1989). Hemodynamic progression of aortic stenosis in adults assessed by Doppler echocardiography. *Journal of the American College of Cardiology* **13**(3): 545-550.
- Otto CM, Pearlman AS, Gardner CL, Enomoto DM, Togo T, Tsuboi H, *et al.* (1988). Experimental validation of Doppler echocardiographic measurement of volume flow through the stenotic aortic valve. *Circulation* **78**(2): 435-441.
- Owens DS, Katz R, Takasu J, Kronmal R, Budoff MJ, O'Brien KD (2010). Incidence and progression of aortic valve calcium in the Multi-ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *The American journal of cardiology* **105**(5): 701-708.
- Palta S, Pai AM, Gill KS, Pai RG (2000). New insights into the progression of aortic stenosis: implications for secondary prevention. *Circulation* **101**(21): 2497-2502.
- Patel R, Kamath A, Varadarajan P, Krishnan S, Pai RG (2012). Slow rate of progression of grade 1 and 2+ aortic regurgitation. *The Journal of heart valve disease* **21**(3): 328-330.

Pathology of vascular disease. Quizlet.  
<http://quizlet.com/30718143/poms1-pathology-of-vascular-disease-flash-cards/>. (30 june 2013).

Peakman TC, Elliot P on behalf of UK Biobank (2008). The UK Biobank sample handling and storage protocol for the collection, processing and archiving of human blood and urine. *International Journal of Epidemiology* 2008;**37**:234–244.

Pellikka PA, Sarano ME, Nishimura RA, Malouf JF, Bailey KR, Scott CG, *et al.* (2005). Outcome of 622 adults with asymptomatic, hemodynamically significant aortic stenosis during prolonged follow-up. *Circulation* **111**(24): 3290-3295.

Pennathur S, Wagner JD, Leeuwenburgh C, Litwak KN, Heinecke JW (2001). A hydroxyl radical-like species oxidizes cynomolgus monkey artery wall proteins in early diabetic vascular disease. *The Journal of clinical investigation* **107**(7): 853-860.

Pereira JJ, Lauer MS, Bashir M, Afridi I, Blackstone EH, Stewart WJ, *et al.* (2002). Survival after aortic valve replacement for severe aortic stenosis with low transvalvular gradients and severe left ventricular dysfunction. *Journal of the American College of Cardiology* **39**(8): 1356-1363.

Perkovic V, Hunt D, Griffin SV, du Plessis M, Becker GJ (2003). Accelerated progression of calcific aortic valve stenosis in dialysis patients. *Nephron Clinical Practice* **94**(2): 40-45.

Perloff JK. Development and regression of increased ventricular mass (1982). *Am J Cardiol* **50**(3):605-611.

Peter M, Hoffmann A, Parker C, Luscher T, Burckhardt D (1993). Progression of aortic stenosis. Role of age and concomitant coronary artery disease. *Chest* **103**(6): 1715-1719.

Pettersson FH, Anderson CA, Clarke GM, Barrett JC, Cardon LR, Morris AP, *et al.* (2009). Marker selection for genetic case-control association studies. *Nature protocols* **4**(5): 743-752.

Piazza N, Kalesan B, van Mieghem N, *et al* (2013). A 3-center comparison of 1-year mortality outcomes between transcatheter aortic valve implantation and surgical aortic valve replacement on the basis of propensity score matching among intermediate-risk surgical patients. *Journal of the American College of Cardiology: Cardiovascular Interventions* **6**(4): 443-451.

Pighi M, Serdoz R, Kilic ID, *et al* (2014). TAVI: New trials and registries offer further welcome evidence - U.S. CoreValve, CHOICE, and GARY. *Global Cardiology Science and Practice* **12**: 78-87.

Politique-de-Gestion (2010). Biobanque de données et de matériel biologique, cohorte hospitalière de l'Institut de Cardiologie de Montréal. Version 4, 23 septembre 2010.

Popescu AC, Antonini-Canterin F, Enache R, Nicolosi GL, Piazza R, Faggiano P, *et al.* (2013). Impact of associated significant aortic regurgitation on left ventricular remodeling and hemodynamic impairment in severe aortic valve stenosis. *Cardiology* **124**(3): 174-181.

Probst V, Le Scouarnec S, Legendre A, Jousseau V, Jaafar P, Nguyen JM, *et al.* (2006). Familial aggregation of calcific aortic valve stenosis in the western part of France. *Circulation* **113**(6): 856-860.



Protocols and guidelines. British Society of Echocardiography.  
<http://www.bsecho.org/education/> (30 September 2013).

Qi W, Mathisen P, Kjekshus J, et al (2001). Natriuretic peptides in patients with aortic stenosis. *Am Heart J* **142**:725–32.

R&D systems (2012). Quantikinine ELISA Human Osteopontin (OPN) immunoassay. Product data sheet  
**[http:// www.rndsystems.com](http://www.rndsystems.com) (7 avril 2013)**

Rahman A, Isenberg DA (2008). Systemic lupus erythematosus. *The New England journal of medicine* **358**(9): 929-939.

Rajamannan NM (2006). Calcific aortic stenosis: a disease ready for prime time. *Circulation* **114**(19): 2007-2009.

Rajamannan NM (2008). Low-density lipoprotein and aortic stenosis. *Heart* **94**(9): 1111-1112.

Rajamannan NM, Subramaniam M, Rickard D, Stock SR, Donovan J, Springett M, *et al.* (2003). Human aortic valve calcification is associated with an osteoblast phenotype. *Circulation* **107**(17): 2181-2184.

Rajamannan NM, Subramaniam M, Springett M, Sebo TC, Niekrasz M, McConnell JP, *et al.* (2002). Atorvastatin inhibits hypercholesterolemia-induced cellular proliferation and bone matrix production in the rabbit aortic valve. *Circulation* **105**(22): 2660-2665.

Rajamannan NM (2011). The role of Lrp5/6 in cardiac valve disease: LDL-density-pressure theory. *J Cell Biochem* **112**(9):2222-2229.

Rajamannan NM, Bonow RO, Rahimtoola SH. Calcific aortic stenosis: an update. *Nat Clin PractCardiovasc Med* 2007;4:254–262.

Rajappan K, Rimoldi OE, Dutka DP, Ariff B, Pennell DJ, Sheridan DJ, *et al.* (2002). Mechanisms of coronary microcirculatory dysfunction in patients with aortic stenosis and angiographically normal coronary arteries. *Circulation* **105**(4): 470-476.

Ralston SH (2013). Clinical practice. Paget's disease of bone. *The New England journal of medicine* **368**(7): 644-650.

Ranjith MP. Echocardiographic assessment of aortic valve stenosis. Slideshare. February 7, 2012.  
**<http://www.slideshare.net/drranjithmp/echo-assessment-of-aortic-stenosis>. (6 June 2013)**

Regitz-Zagrosek V, Lehmkuhl E, Weickert MO (2006). Gender differences in the metabolic syndrome and their role for cardiovascular disease. *Clinical Research in Cardiology* **95**(3): 136-147.

Ren XS, Aggarwal K, Balentine J, et al. Aortic stenosis. Medscape Reference [serial online]. June 22, 2011.

<http://emedicine.medscape.com/article/150638-overview>. (29 May 2013)

Roberts WC, Ko JM (2005). Frequency by decades of unicuspid, bicuspid, and tricuspid aortic valves in adults having isolated aortic valve replacement for aortic stenosis, with or without associated aortic regurgitation. *Circulation* **111**(7): 920-925.

Roger VL, Tajik AJ, Bailey KR, Oh JK, Taylor CL, Seward JB (1990). Progression of aortic stenosis in adults: new appraisal using Doppler echocardiography. *American heart journal* **119**(2 Pt 1): 331-338.

Rosamond W, Flegal K, Friday G, Furie K, Go A, Greenlund K, *et al.* (2007). Heart disease and stroke statistics--2007 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* **115**(5): e69-171.

Rosenhek R, Binder T, Porenta G, Lang I, Christ G, Schemper M, *et al.* (2000). Predictors of outcome in severe, asymptomatic aortic stenosis. *The New England journal of medicine* **343**(9): 611-617.

Rosenhek R, Klaar U, Schemper M, Scholten C, Heger M, Gabriel H, *et al.* (2004a). Mild and moderate aortic stenosis. Natural history and risk stratification by echocardiography. *European heart journal* **25**(3): 199-205.

Rosenhek R, Rader F, Loho N, Gabriel H, Heger M, Klaar U, *et al.* (2004b). Statins but not angiotensin-converting enzyme inhibitors delay progression of aortic stenosis. *Circulation* **110**(10): 1291-1295.

Rosjo H, Andreassen J, Edvardsen T, Omland T (2011). Prognostic usefulness of circulating high-sensitivity troponin T in aortic stenosis and relation to echocardiographic indexes of cardiac function and anatomy. *The American journal of cardiology* **108**(1): 88-91.

Ross J, Jr., Braunwald E (1968). Aortic stenosis. *Circulation* **38**(1 Suppl): 61-67.

Rossebo AB, Pedersen TR, Boman K, Brudi P, Chambers JB, Egstrup K, *et al.* (2008). Intensive lipid lowering with simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis. *The New England journal of medicine* **359**(13): 1343-1356.

Sacchetti B, Funari A, Michienzi S, Di Cesare S, Piersanti S, Saggio I, *et al.* (2007). Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment. *Cell* **131**(2): 324-336.

Salway F *et al* (2008). Levels of 50 RNA tags in plasma and buffy coat from EDTA blood increase with time. *International Journal of Epidemiology* **37**:i11-i15.

Sambola A, Tornos P, Ferreira-Gonzalez I, Evangelista A (2008). Prognostic value of preoperative indexed end-systolic left ventricle diameter in the outcome after surgery in patients with chronic aortic regurgitation. *American heart journal* **155**(6): 1114-1120.

Sanchez PL, Santos JL, Kaski JC, Cruz I, Arribas A, Villacorta E, *et al.* (2006). Relation of circulating C-reactive protein to progression of aortic valve stenosis. *The American journal of cardiology* **97**(1): 90-93.

Schmieder RE, Erdmann J, Delles C, Jacobi J, Fleck E, Hilgers K, *et al.* (2001). Effect of the angiotensin II type 2-receptor gene (+1675 G/A) on left ventricular structure in humans. *Journal of the American College of Cardiology* **37**(1): 175-182.

Scott M, Vesely I (1995). Aortic valve cusp microstructure: the role of elastin. *The Annals of thoracic surgery* **60**(2 Suppl): S391-394.

Selzer A (1987). Changing aspects of the natural history of valvular aortic stenosis. *The New England journal of medicine* **317**(2): 91-98.

Sigurdsson G, Magnusdottir DN, Kristinsson JO, Kristjansson K, Olafsson I (1997). Association of BsmI vitamin-D receptor gene polymorphism with combined bone mass in spine and proximal femur in Icelandic women. *Journal of Internal Medicine* **241**(6): 501-505.

Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, *et al.* (1997). Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* **89**(2): 309-319.

Smith CR, Leon MB, Mack MJ, Miller DC, Moses JW, Svensson LG, *et al.*, PARTNER Trial Investigators (2011). Transcatheter versus surgical aortic-valve replacement in high-risk patients. *The New England journal of medicine* **364**(23): 2187-2198.

Society of thoracic surgeons. Online STS risk calculator.

**<http://riskcalc.sts.org/STSWebRiskCalc/de.aspx> (15 octobre 2013)**

Solberg OG, Ueland T, Wergeland R, Dahl CP, Aakhus S, Aukrust P, *et al.* (2012). High-sensitive troponin T and N-terminal-brain-natriuretic-peptide predict outcome in symptomatic aortic stenosis. *Scandinavian cardiovascular journal : SCJ* **46**(5): 278-285.

Stamm RB, Martin RP (1983). Quantification of pressure gradients across stenotic valves by Doppler ultrasound. *Journal of the American College of Cardiology* **2**(4): 707-718.

Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS (2006). Assessing kidney function--measured and estimated glomerular filtration rate. *The New England journal of medicine* **354**(23): 2473-2483.

Stewart BF, Siscovick D, Lind BK, Gardin JM, Gottdiener JS, Smith VE, *et al.* (1997). Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. Cardiovascular Health Study. *Journal of the American College of Cardiology* **29**(3): 630-634.

Sucosky P, Balachandran K, Elhammali A, Jo H, Yoganathan AP (2009). Altered shear stress stimulates upregulation of endothelial VCAM-1 and ICAM-1 in a BMP-4- and TGF-beta1-dependent pathway. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **29**(2): 254-260.

Sverdlov AL, Ngo DT, Chapman MJ, Ali OA, Chirkov YY, Horowitz JD (2011). Pathogenesis of aortic stenosis: not just a matter of wear and tear. *American journal of cardiovascular disease* **1**(2): 185-199.

Szklo M & Nieto FJ. Epidemiology, Beyond the Basics. 3rd ed. Burlington: Jones and Bartlett Learning; 2000.

Thanassoulis G, Campbell CY, Owens DS, Smith JG, Smith AV, Peloso GM, *et al.* (2013). Genetic associations with valvular calcification and aortic stenosis. *The New England journal of medicine* **368**(6): 503-512.

Thayer P, Balachandran K, Rathan S, Yap CH, Arjunon S, Jo H, *et al.* (2011). The effects of combined cyclic stretch and pressure on the aortic valve interstitial cell phenotype. *Annals of biomedical engineering* **39**(6): 1654-1667.

Tintut Y, Demer LL (2006). Role of Osteoprotegerin and Its Ligands and Competing Receptors in Atherosclerotic Calcification. *J Investig Med* **54**: 395–401.

Towler DA (2013). Molecular and cellular aspects of calcific aortic valve disease. *Circulation research* **113**(2): 198-208.

Trapeaux J, Busseuil D, Shi Y, Nobari S, Shustik D, Mecteau M, *et al.* (2013). Improvement of aortic valve stenosis by ApoA-I mimetic therapy is associated with decreased aortic root and valve remodelling in mice. *British journal of pharmacology* **169**(7): 1587-1599.

Tsutsui H, Ishihara K, Cooper Gt (1993). Cytoskeletal role in the contractile dysfunction of hypertrophied myocardium. *Science* **260**(5108): 682-687.

Ueland T, Dahl CP, Gullestad L, Aakhus S, Broch K, Skardal R, *et al.* (2011). Circulating levels of non-phosphorylated undercarboxylated matrix Gla protein are associated with disease severity in patients with chronic heart failure. *Clinical science* **121**(3): 119-127.

Ueland T, Gullestad L, Dahl CP, Aukrust P, Aakhus S, Solberg OG, *et al.* (2010). Undercarboxylated matrix Gla protein is associated with indices of heart failure and mortality in symptomatic aortic stenosis. *Journal of internal medicine* **268**(5): 483-492.

Umana E, Ahmed W, Alpert MA (2003). Valvular and perivalvular abnormalities in end-stage renal disease. *The American journal of the medical sciences* **325**(4): 237-242.

Vahanian A, Alfieri O, Al-Attar N, Antunes M, Bax J, Cormier B, *et al.* (2008). Transcatheter valve implantation for patients with aortic stenosis: a position statement from the European Association of Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) and the European Society of Cardiology (ESC), in collaboration with the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI). *European heart journal* **29**(11): 1463-1470.

Vahanian A, Baumgartner H, Bax J, Butchart E, Dion R, Filippatos G, *et al.* (2007). Guidelines on the management of valvular heart disease: The Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology. *European heart journal* **28**(2): 230-268.

Vaishnava P, Fuster V, Goldman M, Bonow RO (2011). Surgery for asymptomatic degenerative aortic and mitral valve disease. *Nature reviews. Cardiology* **8**(3): 173-177.

- Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S (1992). Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. *Journal of cardiovascular pharmacology* **20 Suppl 12**: S60-62.
- van der Boon RMA, Houthuizen P, Rutger-Jan N *et al.* (2014). Clinical implications of conduction abnormalities and arrhythmias after transcatheter aortic valve implantation. *Current Cardiology Reports* **16**(1):429 (1-7).
- van Holten TC, Waanders LF, de Groot PG, Vissers J, Hoefer IE, Pasterkamp G, *et al.* (2013). Circulating biomarkers for predicting cardiovascular disease risk; a systematic review and comprehensive overview of meta-analyses. *PloS one* **8**(4): e62080.
- Villari B, Campbell SE, Hess OM, Mall G, Vassalli G, Weber KT, *et al.* (1993). Influence of collagen network on left ventricular systolic and diastolic function in aortic valve disease. *Journal of the American College of Cardiology* **22**(5): 1477-1484.
- Voight BF, Kang HM, Ding J, Palmer CD, Sidore C, Chines PS, *et al.* (2012). The metabochip, a custom genotyping array for genetic studies of metabolic, cardiovascular, and anthropometric traits. *PLoS genetics* **8**(8): e1002793.
- Vukasovic JL, Florenzano F, Adiazola P, Escobar E (1999). Heart rate variability in severe aortic stenosis. *The Journal of heart valve disease* **8**(2): 143-148.
- Wajchenberg BL (2002). Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocrine Reviews* **21**(6): 697-738.
- Wakabayashi K, Tsujino T, Naito Y, Ezumi A, Lee-Kawabata M, Nakao S, *et al.* (2011). Administration of angiotensin-converting enzyme inhibitors is associated with slow progression of mild aortic stenosis in Japanese patients. *Heart and vessels* **26**(3): 252-257.
- Warnes CA (2003). Bicuspid aortic valve and coarctation: two villains part of a diffuse problem. *Heart* **89**(9): 965-966.
- Watson KE, Bostrom K, Ravindranath R, Lam T, Norton B, Demer LL (1994). TGF-beta 1 and 25-hydroxycholesterol stimulate osteoblast-like vascular cells to calcify. *The Journal of clinical investigation* **93**(5): 2106-2113.
- Wayne ML, McIntyre LM (2002). Combining mapping and arraying: An approach to candidate gene identification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**(23): 14903-14906.
- Webb J, Rodés-Cabau J, Fremes S, Pibarot P, Ruel M, Ibrahim R, *et al.* (2012). Transcatheter Aortic Valve Implantation: A Canadian Cardiovascular Society Position Statement. *Canadian Journal of Cardiology* **28**: 520-528.
- Weber M, Arnold R, Rau M, *et al.* (2004). Relation of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide to severity of valvular aortic stenosis. *Am J Cardiol* **94**:740–5
- Weind KL, Ellis CG, Boughner DR (2000). The aortic valve blood supply. *The Journal of heart valve disease* **9**(1): 1-7; discussion 7-8.

- Weiss RM, Lund DD, Chu Y et al. (2013). Osteoprotegerin inhibits aortic valve calcification and preserves valve function in hypercholesterolemic mice. *PloS One* **8**(6):e65201.
- Weir MR, Dzau VJ (1999). The renin-angiotensin-aldosterone system: a specific target for hypertension management. *American journal of hypertension* **12**(12 Pt 3): 205S-213S.
- Whitfield JB (2001). Gamma glutamyl transferase. *Critical reviews in clinical laboratory sciences* **38**(4): 263-355.
- Xie GY, Berk MR, Smith MD, Gurley JC, DeMaria AN (1994). Prognostic value of Doppler transmitral flow patterns in patients with congestive heart failure. *Journal of the American College of Cardiology* **24**(1): 132-139.
- Xu RY, Zhu XF, Yang Y, Ye P (2013). High-sensitive cardiac troponin T. *Journal of geriatric cardiology : JGC* **10**(1): 102-109.
- Yamamoto K, Yamamoto H, Yoshida K, Kisanuki A, Hirano Y, Ohte N, et al. (2010). Prognostic factors for progression of early- and late-stage calcific aortic valve disease in Japanese: the Japanese Aortic Stenosis Study (JASS) Retrospective Analysis. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension* **33**(3): 269-274.
- Yap CH, Saikrishnan N, Tamilselvan G, Yoganathan AP (2012). Experimental measurement of dynamic fluid shear stress on the aortic surface of the aortic valve leaflet. *Biomechanics and modeling in mechanobiology* **11**(1-2): 171-182.
- Yeghiazaryan K, Skowasch D, Bauriedel G, Schild H, Golubnitschaja O (2007). Could activated tissue remodeling be considered as early marker for progressive valve degeneration? Comparative analysis of checkpoint and ECM remodeling gene expression in native degenerating aortic valves and after bioprosthetic replacement. *Amino acids* **32**(1): 109-114.
- Yilmaz MB, Guray U, Guray Y, Cihan G, Caldir V, Cay S, et al. (2004). Lipid profile of patients with aortic stenosis might be predictive of rate of progression. *American heart journal* **147**(5): 915-918.
- Yousry M, Rickenlund A, Petrini J, Gustavsson T, Prah U, Liska J, et al. (2012). Real-time imaging required for optimal echocardiographic assessment of aortic valve calcification. *Clinical physiology and functional imaging* **32**(6): 470-475.
- Yu PJ, Skolnick A, Ferrari G, Heretis K, Mignatti P, Pintucci G, et al. (2009). Correlation between plasma osteopontin levels and aortic valve calcification: potential insights into the pathogenesis of aortic valve calcification and stenosis. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* **138**(1): 196-199.
- Zhang L, Zalewski A, Liu Y, Mazurek T, Cowan S, Martin JL, et al. (2003). Diabetes-induced oxidative stress and low-grade inflammation in porcine coronary arteries. *Circulation* **108**(4): 472-478.
- Zile MR, Brutsaert DL (2002). New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: Part I: diagnosis, prognosis, and measurements of diastolic function. *Circulation* **105**(11): 1387-1393.